

UC-NRLF



B 3 789 174























# 12 CENTRALBLATT

für

## Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

---

**Erste Abteilung. 72. Band**

**Originale**





**CENTRALBLATT**  
für

**Bakteriologie, Parasitenkunde  
und Infektionskrankheiten**

In Verbindung mit

Prof. Dr. F. Loeffler  
Geh. Obermed.-Rat in Berlin

Prof. Dr. R. Pfeiffer  
Geh. Med.-Rat in Breslau

und

Prof. Dr. M. Braun  
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm und  
Geh. Reg.-Rat in Berlin

Dr. A. Weber  
Geh. Reg.-Rat in Berlin-Lichterfelde

**Erste Abteilung. 72. Band**

**Medizinisch-hygienische Bakteriologie  
und tierische Parasitenkunde**

**Originale**

Mit 17 Tafeln und 63 Abbildungen im Text



**Jena**

**Verlag von Gustav Fischer  
1914**

QUAO TO VIRU  
LOHOS JADEN

# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 72. Heft 1/2.

Ausgegeben am 26. November 1913.

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Kenntnis der Morphologie oxydierender Bakterienfermente.

[Aus dem pathologisch-bakteriolog. Institut des Städtischen Krankenhauses zu Karlsruhe. Vorstand: Prof. Dr. E. v. Gierke.]

Von Dipl.-Ing. **Rudolf Brandt.**

Mit 1 Tafel.

### Einleitung.

Die Ausgangspunkte für die heute vorliegenden Arbeiten über Oxydationswirkungen in Bakterien bilden zwei verschiedene Kapitel. Das erste beschäftigt sich mit dem inneren Bau der Bakterienzelle, gekennzeichnet durch das Bestreben, das Bakterienplasma morphologisch zu differenzieren und darin einerseits einen Zellkern nachzuweisen [Nakanishi (13), Preiss (14), Grimme (8)], andererseits aber die Details, die bei den morphologischen Untersuchungen durch Färbung und Reaktion gefunden wurden, chemisch und biologisch zu klassifizieren [A. Meyer (11), Grimme (8), Eisenberg (5) u. a.].

Das zweite Kapitel beschränkt sich nicht auf ein enges und abgegrenztes Gebiet, wie das vorstehende, sondern es faßt die Arbeiten über Oxydationswirkungen aus dem gesamten Tier- und Pflanzenreich zusammen. Die dabei gefundenen Untersuchungsmethoden wurden zum Teil auf die in genannter Richtung verlaufenden Untersuchungen an Bakterien und Mikroorganismen übertragen.

Grundlegend für die Arbeiten letzterer Art waren die Ehrlich'schen Forschungsergebnisse, die er in seiner Abhandlung über das Sauerstoffbedürfnis des Organismus (4) niedergelegt hat. Die beiden Indophenolsynthesen zum Nachweis der Oxydations- und Reduktionsorte im tierischen Gewebe ergaben ihre Anwendungsmöglichkeit an allen den Stellen, wo wir eine oxydierende oder reduzierende Wirkung im Protoplasma zu erwarten haben. Parallel hierzu erscheinen später die Arbeiten der erstgenannten Gruppe von Autoren, in welchen durch Anwendung verschiedenster Farblösungen, gefärbter Nährböden usw. Zellbestandteile im Bakterium differenziert wurden. Bei der Deutung der gefundenen Details indessen kamen größtenteils stark voneinander abweichende Ansichten heraus. Wir dürfen diese Arbeiten natürlich nicht übergehen, da auch sie zum großen Teil den morphologischen Untersuchungen über die Orte bakterieller Oxydations- und Reduktionswirkungen klärend zur Seite gestanden haben.

Die Strukturen, die wir durch färberische oder reaktive Differentiation im lebenden oder fixierten Plasma eines Bakteriums mit Hilfe starker mikroskopischer Vergrößerungen zu sehen bekommen, sind ausschließlich Kügelchen oder Tröpfchen, teils scharf, teils unscharf konturiert — regelrechte Granulationen.

Ueber diese verschiedenen Klassen von Granula, die namentlich nach ihrem analogen färberischen Verhalten zu anderen bekannten, im tierischen Körper nachgewiesenen Stellen hinsichtlich ihrer substantiellen

Verschiedenheit vom Plasma getrennt wurden, herrscht noch keine allgemein übereinstimmende Ansicht; auch die chemischen Untersuchungen, denen Schwierigkeit der Extraktion der Granula aus dem Organismus, winzige Mengen des Analysenmaterials und ungenügende chemische Kenntnis der Vorgänge große Hindernisse in den Weg stellen, haben zur Erkenntnis nicht geführt.

### Theoretischer Teil.

Meyer (11) bringt in seiner Arbeit über die Zelle der Bakterien eine genaue Einteilung der bereits entdeckten Zelleinschlüsse und Granula im Bakterium. Unter anderen werden genannt: Die Reservekohlehydrate, die Fette und die Reserveeiweißstoffe (Volutine). Uns besonders interessieren seine Versuche über die Fette, da sie wertvolle Beiträge zur Erkennung der Natur dieser Art Zelleinschlüsse geben. Seine Versuche, die ich zum Teil bei anderen Autoren wiederholt finde (Grimme, Eisenberg), haben auch bei mir, soweit ihre Nachprüfung für meine Versuche in Frage kam, schöne Ergebnisse gezeitigt.

Zu erwähnen ist an dieser Stelle, daß man sich unter dem, was Meyer allgemein mit Fetten bezeichnet, Gemische von solchen mit Lipoiden vorzustellen hat, eine Tatsache, die übrigens genannter Forscher gleichfalls bestätigt. So erläutert er die Fetteigenschaften morphologisch: „Die Granula liegen in jungen Oidien als kleinste Tröpfchen in größerer Zahl; in älteren, gut ernährten Oidien und Sporangien werden sie viel größer und liegen in geringerer Zahl in der Zelle, so daß ein Fetttröpfchen oft den Durchmesser einer Zelle erreicht.“ Die Zahl der Granula bei alten wie jungen Individuen blieb sich relativ stets gleich. Ferner erwähnt er, „daß sie die am stärksten lichtbrechenden Einschlüsse der Bakterienzelle sind und deshalb bei hoher Einstellung heller als die anderen Bestandteile, bei tiefer Einstellung des Tubus relativ dunkler erscheinen.“

Ueber die Löslichkeit dieser Fetteinschlüsse verbreitet er sich im folgenden: Er löste die Tröpfchen in Eisessig durch Einlegen von tröpfchenhaltigen Oidien in denselben. Modifizierte er den Versuch durch vorangehende Härtung in Formol, Fettfärbung mit Alkannin und Hinzufügen von Eisessig, so sah er die Tröpfchen völlig verschwinden und im rötlich gefärbten Cytoplasma rundliche Vakuolen liegen. Ließ er etwas von der Kolonie des Bacillus mit wenig Eisessig liegen, verdünnte mit Wasser, neutralisierte mit Ammoniak und färbte mit Methylenblau, so wurden die Tröpfchen alle gelöst, und er fand an deren Stelle Vakuolen.

Zu diesem Versuche muß ich bemerken, daß ich des öfteren Präparate von Milzbrand mit Methylenblau Loeffler, auch mit Karbol-fuchsin gefärbt habe und daß ich größere Granula heller im gefärbten Cytoplasma liegen sah (erwähnt gleichfalls von Grimme und Eisenberg). Wenn also Meyer allein aus der Hellerfärbung der Granula (d. h. er versteht nunmehr unter diesen Granulationen Stellen, an denen sich das Fett nicht mehr befindet) auf Vakuolen schließt, so möchte ich ihm darin nicht ganz beistimmen, da bei den von mir (auch von Grimme, Eisenberg) angewandten Färbungen natürlich eine Herauslösung der fettartigen Substanz ausgeschlossen ist. Das fertige Präparat mit den hellen Stellen im Bakterienleib macht allerdings den Eindruck, als ob es sich dabei um Vakuolen handle.

In dem gleichen Kapitel erwähnt der Verf. ja auch das Methylenblau (über Fuchsin spricht er sich analog aus) als einen Farbstoff, der die

Eigenschaft besitzt, das Fett nicht, das Plasma und die Membran dagegen sehr intensiv zu färben, eine Tatsache übrigens, die chemisch wohlbekannt ist.

Er stellt sodann verschiedene Reaktionen an dem Bakterienmaterial an, die sämtlich für die Annahme lipoider Substanzen sprechen: Chloralhydrat-Wasser; Chloralhydrat-Alkohol absolutus; Eau de Javelle, Osmiumsäure, Alkohol, Chloroform usw. Auch verschiedene Farbstoffe benutzt er, wie Dimethylamidoazobenzol in Alkohol, Sudan III- und Alkanninlösung.

Erwähnt ist auch Naphtolblau aus Dimethyl-p-Phenylendiamin mit  $\alpha$ -Naphtol als Fettfarbstoff. Er meint damit natürlich das Indophenolblau; das Naphtolblau ist ein wasserlöslicher Körper.

Ebenfalls finde ich hier die Angabe von der Sichtbarmachung der Tröpfchen auf ultramikroskopischem Wege, was auf dem vom Plasma stark verschiedenen Brechungsindex der Granulasubstanz beruht.

An zweiter Stelle ist die 10 Jahre ältere Arbeit von Grimme (8, 1902) zu nennen, der die von Meyer (11) bereits in seinen früheren Arbeiten so klassifizierten „ergastischen Gebilde“ gleichfalls einer Durchsicht unterzieht. Auch hier finden wir eine Anzahl bestätigender Versuche für die Lipoidnatur der Granula. So sind Färbungen mit Methyleneblau und Karbolfuchsin von ihm vorgenommen worden, die zu gleichen Resultaten führten wie die diesbezüglichen vorhin erwähnten Versuche von A. Meyer. Auch Bunge (1, 1895), Mühlischlegels (12, 1899) Erklärung genannter Granula, die nach ihnen sporenähnlichen Charakter besitzen sollen, gibt er nicht statt und hält sie für Fetttropfen. (Näheres darüber Grimme, p. 54.) Ueber die von Ernst im wurzelförmigen Bacillus und im sogenannten *B. megaterium* sichtbar gemachten Granula äußert er sich dahin, daß er einem Teil derselben gleichfalls Fettnatur zuschreibt.

Weitaus das größte Material zum Nachweis der Fettnatur unserer Granula bringt Eisenberg (5, 1902) zusammen. Den Ausgangspunkt für seine Arbeit bildete die Indophenolblaureaktion an Bakterien von Dietrich und Liebermeister (3). Er benutzte zur Synthese des Farbstoffs gleichfalls seine Komponenten, fügte indessen, um die Oxydation zum Farbstoff zu beschleunigen, oxydierende Agentien hinzu (Ferricyankalium, auch Wasserstoffsuperoxyd), unter gänzlicher Vernachlässigung der Oxydase, die ihm die Blaufärbung der Körnchen gleichfalls bewirkt hätte. Mit Paranitrosodimethylanilin und alkalischem  $\beta$ -Naphtol bekam er kein Indophenol, wenn er das Gemisch durch Bakterien zur Reaktion brachte.

Sodann erwähnt er Nilblausulfat, das mit Sodalösung in die rötliche Base umgesetzt wird, als vorzügliches Reagens auf die Granulationen, die dadurch rot gefärbt werden (auch Vay, 22). Während er so viel Sodalösung zuzusetzen scheint, bis alles Nilblausulfat zur Base umgewandelt ist, die Farblösung sich also rot gefärbt hat unter Niederschlagsbildung, habe ich durch eine Spur Sodalösung den Umschlag des tiefen Blaus in ein dunkles Blauviolett bewirkt und damit die Körnchen im Milzbrand zu färben versucht. Es gelang mir auf diese Weise, dieselben schön rot zu färben. (Basischer Fettcharakter.)

Färbungsversuche unternahm er auch mit alkoholischer Indophenolblaulösung, die ihm die Einschlüsse blau färbte.

Ferner hat er Doppelfärbungsversuche vorgenommen, ausgehend von dem Versuchesresultat, daß bei der Färbung der Granula die sauren wie

die basischen Anilinfarbstoffe versagen. Er fand zufällig, daß mit Indophenolblau gefärbte Körnchen nachträglich zugesetztes wässeriges Fuchsin aufnahmen, wodurch die Granula besonders elektiv gefärbt wurden, während das Cytoplasma sich nur blaß anfärbte. Er benutzte demgemäß die Komponenten des Farbstoffes auch einzeln und fand, daß das  $\alpha$ -Naphtol das eigentlich beizende Agens sei. So prüfte er nach vorangegangener Beizung eine große Anzahl saurer Farbstoffe (Eisenberg, p. 261), jedoch mit negativem Erfolg. Mit einigen Farbstoffbasen erhielt er dagegen wieder gute färberische Resultate. Ein näheres Eingehen darauf verbietet jedoch der Raum. Diese Versuche brachten ihn dazu, auch andere Substanzen zur Beizung der Granula hinzuzuziehen, und so wurden in der Folge von ihm auch Phenol, Jod und Pikrinsäure mit gutem Erfolg verwandt.

In weiterer Folge untersuchte der Autor gleichermaßen sporenhaltiges Material (Eisenberg, p. 268 Z. 7 ff.), ohne daß er dabei färberisch positive Resultate erhielt. Die Sporen nahmen die Farbstoffe nicht auf. Durch diese Versuche legte er demgemäß fest, daß die Granula mit den Sporen in keinerlei chemischem Zusammenhange stehen, daß es keine Sporenvorstufen sind, und empfiehlt einerseits Bunge, die Bezeichnung „sporogene Körper“, andererseits Růžicka, die Benennung „Sporoidkörper“ fallen zu lassen.

Auch glaubt er, daß die Deutung der Granula als Plasma- oder Chromatindifferenzierungen nicht gerade plausibel erscheint.

Auf seine Widerlegung der morphochemischen Schlüsse, die, wie wir in der nachher zu besprechenden Arbeit sehen werden, von Dietrich und Liebermeister gezogen wurden, ist indessen eine kurze Diskussion wertvoll.

Er spricht in dem betreffenden Abschnitt die Ansicht aus, die sich für ihn aus den angestellten Versuchen ergibt, daß eine katalytische Beschleunigung der Oxydation seitens der Bakterien ja wohl mit im Spiele sein möge, aber ob dieser Katalysator gerade in den Granula lokalisiert sei, könne aus dem Reaktionsverlauf nicht entnommen werden. Mithin sei der einzige Grund für die Färbung der Granula die Löslichkeit des Farbstoffes in der Granulasubstanz und seine Unlöslichkeit im Cytoplasma. Als Lehre ist daraus zu entnehmen, daß der Beweis der Lokalisation der sauerstoffübertragenden Substanz in den Granula nicht mit Hilfe der Indophenolreaktion gefunden werden kann. Die gleiche Ansicht äußert er über die Oxydasereaktion von Winkler an den neutrophilen Granulationen der polynukleären Leukocyten, indem er sagt, daß die Erythrocyten ja ungefärbt blieben, trotzdem das in ihnen enthaltene Hämoglobin einen guten Sauerstoffüberträger abgäbe. Es sei mir gestattet, darauf an der zuständigen Stelle in meiner Arbeit zurückzukommen.

So bleibt denn nach ihm als einzige Auffassung noch übrig, daß es sich um Reservekörnchen von Fett handelt. Nach seinen Färbungsversuchen hält er das für zur Genüge erwiesen. Daß nicht alle Farbreaktionen auf alle Fette in gleicher Weise ansprachen, motiviert er damit, daß vorläufige Färbversuche mit 3 verschiedenen Fettemulsionen, und zwar Olivenölemulsion in Seifenwasser, Olivenölemulsion in alkalischem Blutserum und mit Kuhmilch sehr deutlich zeigten, wie verschieden das Verhalten der Fette je nach dem Milieu ausfallen könne.

Zu erwähnen ist noch, daß Eisenberg bei anaërober Behandlung von Bakterien die Granula vermißte und also ihr Auftreten mit der Aëro- und Anaërobiose in engen Zusammenhang bringt.

Gleichfalls finde ich, daß der Autor bei Typhus, Coli und Pyocyanus Granulationen nicht hat nachweisen können.

Nach den Ansichten genannter Forscher handelt es sich hinsichtlich der Granula um Fetteinschlüsse. Als positiv können wir diesen Abhandlungen also entnehmen, daß wir es mit fettanalogen Substanzen oder, wie Dietrich in Vorschlag bringt, mit „lipoiden Substanzen“ zu tun haben.

Die zweite Klasse von Arbeiten, die im folgenden angeführt werden sollen, sind die Arbeiten der Forscher, die den Granula die Fettnatur gänzlich absprechen und sie einfach als Katalysatoren resp. Sauerstoffüberträger bezeichnen. Dietrich und Liebermeisters (3) Arbeit über sauerstoffübertragende Körnchen in Milzbrandbacillen führt uns in diese Gruppe ein. Ihre Versuche beziehen sich darauf, daß sie die Indophenolblausynthese aus Dimethyl-p-phenylendiamin und  $\alpha$ -Naphthol verwenden, um die Granula in den Milzbrandbacillen durch Reaktion sichtbar zu machen.

Die Beobachtungen, die sie machten, seien hier angeführt: „Die Reaktion ist in Schrägagarkulturen, die direkt aus der Maus gezüchtet wurden, schon nach 8-stündigem Wachstum bei 37° darstellbar; es finden sich ein oder mehrere kleinste Pünktchen, die ungefärbt nur schwer erkennbar sind, aber in der Blaufärbung sich deutlich inmitten der Stäbchen und Fäden hervorheben. Bei weiterem Wachstum (bis 24 Stunden) werden die Körnchen größer, es finden sich in einem Stäbchen eines Fadens ein größeres zentrales oder zwei mehr an den Enden stehende Körnchen, doch auch drei oder mehrere kleine Granula. Bei geeigneter Kulturmethode, am besten auf Kartoffel, sieht man dann in 24–48 Stunden neben den Granula die ungefärbten Sporen oder Sporenvorstufen. — Die letzteren lassen sich leicht von den Granula unterscheiden, da sie die Reaktion nicht geben.“

Schlossen sie die Bakterien in der Aufschwemmung im Gemisch von der Luft ab, so wurde eine Reaktion nicht erhalten. Gleichfalls versagte dieselbe bei anaërober Züchtung. Erhitzen auf 80° während einiger Zeit führte gleichfalls zu einem negativen Versuchsergebnis. Auch fanden sie, daß das Auftreten der Granula mit der Virulenz in keinem Zusammenhang steht.

Sie untersuchten noch andere Bakterienarten auf Granula und Oxydationswirkungen und fanden bei

*B. typhi*,  
*B. coli*,  
*B. diphtheriae*,  
*V. cholerae*,  
*B. pyocyaneus*,  
*B. megaterium*,  
*B. tuberculosis*

bestätigt, daß das Zustandekommen der Blaufärbung in den Granula durch Oxydationswirkung in denselben bewirkt werde.

Darauf folgen in der Arbeit Erwägungen über die chemische Natur der Granula. Die Verfasser kommen zu dem Schluß, daß die Körnchen für den lebenden und wachsenden Bacillus die Rolle eines Sauerstoffüberträgers besitzen.

Zu erwähnen ist an dieser Stelle, daß Dietrich von der Ansicht, die er zusammen mit Liebermeister in der eben zitierten Arbeit niedergelegt hat, später wieder abgekommen ist (2), und daß er in dieser später erschienenen Arbeit sich gegen die sauerstoffübertragende Natur der Granula ausspricht.



In der gleichen Gedankenrichtung bewegen sich die Ausführungen, die Schultze (18) über dieses Thema gemacht hat. Er studiert die Reduktions- und Oxydationswirkungen an von ihm mit  $\alpha$ -Naphtol und p-Nitrosodimethylanilin einerseits und  $\alpha$ -Naphtol und Dimethyl-p-phenyldiamin andererseits versetzten Reduktions- bzw. Oxydationsnährböden. Er erzielte damit eine schöne Blaugrünfärbung bei den Reduktionsversuchen. Untersuchte er Kulturen letzterer im hängenden Tropfen mikroskopisch, „so zeigte sich in einigen Fällen eine Färbung der ganzen Bacillenleiber, in anderen Fällen traten in den Bacillen allerfeinste Körnchen resp. Tröpfchen verschiedenster Größe hervor, ohne daß dies indes immer der Fall war. Die diffuse Grünfärbung der Bakterienkulturen überwog. Bei den Kokkenkulturen traten neben den grüngefärbten Kokken noch grünblaugefärbte Tropfen im mikroskopischen Präparat auf“. Es sind dies natürlich die dabei unvermeidlichen Farbstoffniederschläge.

Ein Wachstum auf diesen präparierten Nährböden wurde vom Verfasser nicht beobachtet. Ebenso aber auch keine Abtötung, denn bei einer Ueberimpfung auf gewöhnlichen Nährboden trat wieder Wachstum auf. Mit Kochsalzlösung gewaschene Bacillenmassen geben nach seinen Versuchen die Reaktion gleichfalls, so daß nicht etwa Stoffwechselprodukte dieselbe vermitteln konnten. Durch Hitze abgetötete Kulturen gaben die Reaktion nicht mehr.

Aus dieser Farbstoffbildung schließt er auf die Reduktase. Seine Versuche wurden mit *Staph. pyogenes aureus*, *B. fluorescens capsulatus* und *B. pyocyaneus* ausgeführt.

In gleicher Weise untersuchte er die Oxydationswirkung eines Bakteriums, indem er, wie vorhin erwähnt, das p-Nitrosodimethylanilin durch Dimethyl-p-phenyldiamin nach der Vorschrift von Dietrich und Liebermeister ersetzte. Er prüfte die Resultate der beiden Autoren nach und fand dieselben bestätigt. Einen Nachteil entdeckte er jedoch in der Untersuchungsweise von Dietrich und Liebermeister, nämlich daß bei ihren Bakterienaufschwemmungen im wässrigen Gemisch beider Komponenten Farbstoffniederschläge entstehen und daß durch die Reagentien in puro die Bakterien schwer geschädigt werden. Deshalb versetzte er in gleicher Weise wie bei seinen Reduktionsversuchen den Agar mit  $\alpha$ -Naphtol und Dimethyl-p-phenyldiamin in richtigem Mischungsverhältnis und trug auf den von ihm so benannten „Oxydaseagar“ mit der Platinnadel Bacillenrasen auf. Hier fand er eine Blaufärbung durch Oxydasewirkung. Allen zur Untersuchung herangezogenen Bakterienarten ist nach ihm jedoch die Fähigkeit, zu oxydieren, nicht verliehen, denn er vermißte die Reaktion bei

*Staph. aureus*,  
*B. dysenteriae*,  
*B. pneumoniae*,  
*Sp. Finkler-Prior*,

dagegen bei

*B. pyocyaneus*,  
*B. fluorescens capsulatus*,  
*B. anthracis*,  
*B. subtilis*,  
*V. cholerae*

trat die Oxydasewirkung sehr deutlich ein.

Von Typhus untersuchte er zwei Stämme; der eine zeigte positive Reaktion (jedenfalls ein älterer), während der andere, der vielleicht jüngeren Datums war, hinsichtlich der Reaktion versagte.

Das mikroskopische Bild zeigte ihm die Bakterien mit Granula angefüllt, die Beweglichkeit behalten die Individuen trotzdem bei, was er bei *B. subtilis* sehen konnte. Er bezeichnete demgemäß die Färbung als vitale.

Die Fortsetzung und Erweiterung dieser Arbeit ist eine von Kramer (9) ausgearbeitete Zusammenstellung einer großen Anzahl von Bakterien, Sproßpilzen und zuletzt Protozoen. Ihr Verhalten auf dem Schultzeschen Oxydaseagar wird systematisch durchgeprüft und tabellarisch aufnotiert. Parallel damit laufen Tierversuche mit virulenten Kulturen von Milzbrand, Rotz und Cholera, die dartun sollen, daß die Vorbehandlung derselben auf dem Oxydaseagar die Mikroorganismen in keiner Weise schädigend beeinflußt hat.

In weiteren Versuchen wurde an einigen, die Reaktion gut und schnell zeigenden Bakteriaceen eine Vorbehandlung mit Reagentien eingeleitet zur Untersuchung der eventuellen Schädigung des reagierenden Stoffes (der Oxydase) durch diese. Die Kulturen wurden der Behandlung von Chloroform, Chloralhydrat, 96-proz. Alkohol, Aether, Toluol, Benzin, Ammoniak, Formalin, Salzsäure und Hitze von 60° ausgesetzt, und es ergab sich zweifellos teils eine stärkere (Hitze, Salzsäure), teils schwächere Schädigung des oxydierenden Fermentes. Diese makroskopisch ausgeführten und mikroskopisch kontrollierten Untersuchungen beziehen sich auf die durch die Bakterien hervorgerufenen Oxydationswirkungen.

Ueber die Reduktionswirkungen faßt er sich kürzer. Hervorzuheben ist hier, daß er entgegen Schultze bei den Bakteriaceen nur eine gleichmäßige Grünfärbung der Zellen, dagegen keine Granula innerhalb der Zellen beobachtete.

Da ich mich mit Reduktionsversuchen unter Anwendung der Indophenolblausynthese aus  $\alpha$ -Naphtol und p-Nitrosodimethylanilin in praxi nicht genügend beschäftigt habe, um darüber Aufzeichnungen machen zu können, so erwähne ich an dieser Stelle nur, daß ich auf dem Schultzeschen Reduktionsnährboden fand, daß die von mir geprüften Bakterien, vor allem Milzbrand, durchweg blaue Granula aufwiesen, und daß der auf den Nährboden, dessen Farbe grünblau war, aufgetragene Bacillenrasen nach kurzer Zeit intensiv sich bläute.

Anaërobier ließen nach Kramer Oxydationswirkungen nicht erkennen.

Faßt man nun die Ergebnisse der Arbeiten der zweiten Gruppe besprochener Autoren zusammen, so kommt man, analog den Untersuchungen über Oxydationswirkungen in pflanzlichen und tierischen Präparaten, zu der Erkenntnis, daß auch in den Bakterien ein Ferment wirksam sein muß, das Einwirkung hat auf die soviel raschere Bildung des Farbstoffes, als diese in irgendeiner Weise an der Luft geschehen könnte. Der Beweis allerdings, ob sich diese sauerstoffübertragenden Substanzen in den Granula befinden, ist damit noch nicht erbracht, geschweige denn der, daß diese Granulasubstanz das reine Ferment darstellen könnte.

Nachdem wir in den vorstehenden Abschnitten die verschiedenen Autoren kennen gelernt haben, deren Arbeiten den zwei genannten, einander völlig entgegengesetzten Richtungen nachgehen, indem die einen sich ausschließlich für die Fettnatur und gegen die Oxydasenatur der Granula erklären, die anderen die Granula für Sauerstoffüberträger halten und ihre Fettnatur von der Hand weisen, ist es von Interesse,

zu untersuchen, ob nicht eine einwandfreie Methode den Nachweis zu führen imstande sei, in welcher Beziehung eigentlich die Oxydase zu den Granula steht.

Die Frage, wie die fettartigen Gebilde im Bakterienorganismus eigentlich entstehen, ist durch die bekannte Tatsache bereits beantwortet, daß die Umwandlung der fettenthaltenden Nahrungsstoffe in die im Organismus enthaltenen „assimilierten Fette“ durch die fettspaltenden und fettaufbauenden Fermente vor sich geht. Gleichfalls ist bekannt, daß die pflanzliche und tierische Zelle meist mehrere Fermente, die untereinander sogar gemischt sein können, enthält. Und so ist es nicht von der Hand zu weisen, daß die Granula, lipoider Natur, die „Fettfermente“ gemischt mit Oxydase enthalten. Die Annahme, daß es gerade Oxydase sei, die hier mit im Bunde sind, klingt nicht so unwahrscheinlich, hat doch Reis (16) z. B. gefunden, daß die Katalase in der Milch in irgendwelcher Weise mit den Fettkügelchen darin vergesellschaftet ist.

### Praktischer Teil.

#### Allgemeine Untersuchungen.

Es war vorerst nicht meine Aufgabe gewesen, Untersuchungen über die Lokalisation der Oxydationsfermente im Bakterium anzustellen, sondern eine weitgehende Klassifizierung sämtlicher in unserem Institut vorhandenen Bakterien sollte, nach Vornahme von Reaktionen verschiedenster chemischer Stoffe unter möglichst variierten Bedingungen an ihnen, das vorhandene Material sammeln und vervollständigen. Dieser Arbeit hat mich leider die kurz nach Entwurf meiner Arbeitsdisposition erschienene systematische Zusammenfassung Kramers (9) überhoben. Es sind nun aber noch vor dem Erscheinen dieser Arbeit eine Anzahl Versuche ausgeführt und Methoden festgelegt worden, die ich nicht unterlassen möchte, zu erwähnen, da sie für eine Weiterarbeit in dieser Richtung vielleicht nicht ganz ohne Bedeutung sein werden. Es waren diese Untersuchungen übrigens mitbestimmend, mich mit der Lösung der Frage der Lokalisation der Oxydase im Bakterium zu beschäftigen.

Ausgehend von der stark oxydierenden Wirkung des gewöhnlichen Nähragars, den Schultze bei seinen Untersuchungen zum Nachweis der Oxydations- bzw. Reduktionswirkungen an Bakterien mit den Lösungen der Farbstoffkomponenten versetzte und ferner wegen der trotz dieser guten Methode vorhandenen Farbstoffniederschläge, die ungelöst blieben und im mikroskopischen Bild Störungen verursachten, ließ ich auf den Rat meines Lehrers, des Herrn Professor von Gierke, nur die Dämpfe der Gemische, resp. die Dämpfe der festen Substanzen, gemischt und getrennt voneinander, auf die Bakterien einwirken. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß in den Deckel einer Petri-Schale in getrennten Näpfchen  $\alpha$ -Naphtol und Dimethyl-p-phenylendiamin (p-Nitrosodimethylanilin) in Lösungen oder auf Filtrierpapier in festem Zustande getrennt hineingestellt wurden. Dahinein wurde dann eine Kultur, die in dem Boden der Schale vom Tage zuvor gewachsen war, mit der Kulturseite nach unten gestülpt und das Ganze einen weiteren halben Tag im Brutschrank sich selbst überlassen. Ich fand dabei heraus, daß wir damit eine sehr saubere Arbeit leisten konnten, wodurch weder der Nährboden hinsichtlich Intensität der Bläuung und Durchsichtigkeit eingebüßt hatte, noch daß die Bakterien auch nur im geringsten weniger Farbstoff synthetisch dargestellt hatten, als das bei den zum Vergleich herangezogenen Schultzeschen Nähr-

böden der Fall war. Mit den festen Substanzen erhielt ich weit glänzendere Resultate als mit den untergestellten Lösungen derselben.

Die Anwendung der Dämpfe der festen Substanzen ermöglichte uns sogar, den Versuch im hohlen Objektträger unter dem hängenden Tropfen auszuführen, wobei ebenfalls gute Resultate erzielt wurden. Eine Spur der Substanzen, in die Aushöhlung des Objektträgers gebracht, reichte zur Synthese aus.

Ueberhaupt erkannte ich, daß es zweckmäßig sei, alle mikroskopischen Untersuchungen auf Oxydationswirkung im hängenden Tropfen auszuführen und nicht einfach zwischen Deckglas und Objektträger, damit der Sauerstoff der Luft ständig freien Zutritt zu dem Reaktionsgemisch hat, denn ich beobachtete, daß der Endzustand der Reaktion in der hohlen Kammer sehr viel schneller erreicht wird, als im Kapillarraum der Plangläser.

Gleichfalls lag der Gedanke nicht fern, zu untersuchen, ob es nicht möglich sei, die Bakterien an eine Farbstoffkomponente, entweder an  $\alpha$ -Naphtol oder an Dimethyl-p-phenylendiamin zu gewöhnen und alsdann die andere Komponente in Lösung auf den Bakterienrasen wirken zu lassen, mit der Aussicht, daß dabei ebenfalls eine Bläuung, also eine Farbstoffsynthese, zustande kommen könnte.

So wurden Agarröhrchen, die durchweg mit 10 ccm Nähragar gefüllt waren, flüssig gemacht, nach Erkalten bei 40° mit verschiedenen Volumina  $\alpha$ -Naphtol die einen und mit Dimethyl-p-phenylendiamin die anderen versetzt und auf wohlabgestimmte Konzentrationen gebracht. Von vornherein schied jedoch der mit Dimethyl-p-phenylendiamin versetzte Agar aus, da die Bakterien sich nicht daran zu gewöhnen vermochten. Die Versuche mit der Gewöhnung an  $\alpha$ -Naphtol zeitigten indes gute Resultate.

Den Ueberblick hierüber geben uns nachstehende Tabellen. Als Untersuchungsmaterial wurden *B. anthracis* und *V. cholerae* gewählt.

#### a) Milzbrand.

Eine 24 Stunden alte Kultur dieses Bacillus wurde in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und davon je eine Platinöse voll einem der in genannter Weise vorbereiteten Schrägagarröhrchen aufgeimpft.

Angewandte Agarmenge = 10 ccm		
Röhre No.	$\alpha$ -Naphtol in 0,5-proz. Lösung	Wachstum nach 2 $\times$ 24 Stunden
1	0,1 ccm	++
2	0,2 „	+
3	0,4 „	+
4	0,6 „	—
5	1,0 „	—
6	1,5 „	—

Da, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, nicht in allen Röhrchen Wachstum eintrat, wurde versucht, ob nicht etwa Bakterien, die an eine geringere Naphtolkonzentration gewöhnt waren, nun auf konzentrierteren Nährböden weiterwüchsen.

Es wurden mithin übergeimpft:

2mal 24 Stunden nach dem Tage der ersten Impfung:  
Röhre 3 auf 4, 5, 6.

3mal 24 Stunden nach dem Tage der ersten Impfung:

Röhre 4 zeigt deutliches Wachstum;  
Röhren 5, 6 weisen kein Wachstum auf.

Deshalb Röhre 4 auf 5, 6 übergeimpft.

4mal 24 Stunden nach dem Tage der ersten Impfung:

Röhre 5 von 4 zeigt stellenweise gutes Wachstum;  
Röhre 6 von 4 nicht.

Deshalb Röhre 5 auf 6 übergeimpft.

5mal 24 Stunden nach dem Tage der ersten Impfung:

Röhre 6 von 5 zeigt kein Wachstum.

Vor allen Dingen lehrt uns diese Versuchsreihe: Der Milzbrandbacillus wächst, frisch auf Naphtolnährboden übergeimpft, nur bis zu einem gewissen Konzentrationsgrade auf genanntem Boden; es ist aber möglich, durch stufenweises Ueberimpfen von an gewisse Konzentrationen bereits gewöhnten Bacillen diese an ziemlich hohe Konzentrationen des  $\alpha$ -Naphtols im Nähragar zu gewöhnen.

#### b) Cholera.

Als Kontrollprobe wurde eine Cholerakultur, 24 Stunden alt, in der gleichen Weise behandelt:

Angewandte Agarmenge = 10 ccm		
Röhre No.	$\alpha$ -Naphtol in 0,5-proz. Lösung	Wachstum nach 24 Stunden
1	0,2 ccm	+++++
2	0,3 „	+++++
3	0,4 „	++++
4	0,6 „	+++
5	0,9 „	++
6	1,2 „	+
7	1,5 „	—
8	1,8 „	—
9	2,1 „	—
10	2,5 „	—

Es gelang, in derselben Weise wie vorhin beim Milzbrand, die Impfungen bis 9 fortzusetzen; Röhre 10 bot der Kultur die letale Dosis.

Aus den beiden Tabellen ist ersichtlich, daß der Cholerastamm sich an viel höhere Naphtolkonzentrationen gewöhnen läßt als der Milzbrandstamm.

Beide Stämme wurden nun, um zu untersuchen, ob ein Weiterwachsen auf normalem Nährboden noch möglich war, auf 5 bzw. 9 gewöhnliche Schrägagarröhrchen verimpft, und ich konnte bereits am folgenden Tage mich davon überzeugen, daß die Kulturen gut gewachsen waren. Der Aufenthalt auf dem Naphtolnährboden hatte, was das Wachstum anbelangt, nicht geschadet. Auf Röhre 6 der Milzbrandzucht und Röhre 10 der Cholerazucht wurde durch 2mal 24 Stunden eine Platinöse voll Bacillenmaterial von Röhre 5 der einen bzw. 9 der anderen Kultur gehalten; es ließ sich nachweisen, daß bei darauffolgender Ueberimpfung auf gewöhnlichen Agar kein Wachstum mehr erfolgte. Die Bakterien waren abgetötet.

Die Resultate dieser Versuchsreihe haben eine Bedeutung insofern, als es zu versuchen wäre, ob Bakterien auf diese Art etwa an Desinfektionsmittel gewöhnt werden könnten; tatsächlich fand ich diese Annahme in einer später im Centralblatt erschienenen Arbeit von H. Regenstein (15) bestätigt.

Es folgte nun aus diesen Untersuchungen die weitere Reihe auszuführender Versuche, wie sich diese Bakterien, die an Naphtol in verschiedener Konzentration gewöhnt waren, gegenüber der in Lösung zugesetzten zweiten Komponente, dem Dimethyl-p-phenylendiamin, verhielten. Zu den Versuchen wurde die Milzbrandreihe herangezogen.

Ein Tropfen Dimethyl-p-phenylendiamin wurde gut filtriert auf einen Objektträger gegeben und dazu, wie die Tabelle angibt, das Material hinzugefügt:

Objektträger mit 1 Tropfen Diamin	Milzbrand	Röhre No.
Versuch 1	Naphtolfrei	0
„ 2	Naphtol 0,4	3
„ 3	„ 0,6	4
„ 4	„ 1,0	5
„ 5	„ 1,5	6

Die Ergebnisse der nachfolgenden makroskopischen Untersuchung waren:

Zu Versuch 1: Die Einwirkung von einem Tropfen des Diamins auf Milzbrandmaterial, das auf gewöhnlichem Nährboden gewachsen war, ergab keine Oxydasewirkung. Der Bakterienrasen bleibt völlig ungebläut.

Zu Versuch 2: Die Bläuung des Materials ist schwach erkennbar, aber positiv.

Zu Versuch 3: Bläuung stärker.

Zu Versuch 4: Bläuung ausgesprochen; das Präparat hat dasselbe Aussehen wie die Oxydasereaktion im Gemisch beider Komponenten.

Zu Versuch 5: Von dem aufgetragenen Rasen, der, wie bereits erwähnt, 2 Tage auf Röhre 6 aufbewahrt war, wurde ebenfalls ein Quantum im Diamintropfen untersucht. Eine Bläuung war auch nach längerer Zeit nicht festzustellen.

Die mikroskopische Prüfung vorstehender Versuche ergab:

Versuch 1: Die naphtolfreie Kultur gibt weder Granulareaktion noch Färbung; die Körnchen treten nur gemäß ihrer stärkeren Lichtbrechung hervor.

Versuch 2: Granula blauviolett, aber bei völlig geöffneter Blende sichtbar.

Versuch 3: Granula blauviolett, doch stärker wie zuvor.

Versuch 4: Granula blau, wie bei Färbung mit Indophenolblau.

Versuch 5: Keine Reaktion und Färbung.

Diese Ergebnisse, die, wie ich feststellen konnte, makroskopisch sowohl wie mikroskopisch eine so scharfe, quantitative Abstimmung zeigten, waren für mich ausschlaggebend, daß wir vielleicht doch in viel weiterem Maße den Granula Bedeutung beimessen müssen, als wir es tun, wenn wir sie allein als Reservefettstoffe im Sinne A. Meyers betrachten. Zum Beweis indessen für die von den vorhin erwähnten Forschern aufgestellte Granulahypothese konnte diese Versuchsreihe keine Resultate bringen.

Wege zum Beweise und der Nachweis selbst, daß die Granula die Träger der Oxydase sind.

Nunmehr also stellte ich mir die Aufgabe, einen Weg zu finden, wie man die Indophenolblaugranula wirklich als Träger der Oxydationsfermente identifizieren könne.

Es stehen hier in der Hauptsache drei Wege offen. Der erste Weg erstreckt sich auf Versuche, die Granula quantitativ aus den Bakterien herauszulösen. Sind nun die Granula die Träger der Oxydase, so geben sie die Indophenolreaktion mit positivem Resultat; im anderen Falle müßte das Cytoplasma Oxydasewirkung zeigen.

Der zweite Weg folgert sich zum großen Teil aus dem oben angegebenen. Ist es möglich, die Bakterien frisch vom Tierkörper, in dem

sie bekanntlich große Granulationen lipoider Substanzen nicht aufweisen, durch Züchtung auf Nährböden, die auch nicht Spuren von Fett enthalten, zu züchten? Zeigen sie dann eine positive Indophenolreaktion im Fall keine Granula zu erkennen sind oder geben sie sie nicht? Im ersteren Fall spräche der Versuch gegen, im letzteren Fall für die Granulatheorie.

Der dritte, wohl leichteste und beste Weg, weil er den geringsten Schwierigkeiten hinsichtlich der Untersuchungsmethoden nur begegnet, ist es, wenn eine ganz neue Oxydasereaktion den Nachweis zu führen imstande ist. Eine Reaktion, bei der, wie an früherer Stelle bereits bemerkt, ein Farbstoff gebildet wird, der die Eigenschaft besitzt, im Granulum und im Protoplasma mindestens gleich löslich zu sein, oder was besser ist, wenn derselbe in den Granula unlöslich ist und seine Farbwirkung lediglich auf das Cytoplasma beschränkt.

Nun schied der erste Weg von vornherein aus. Die Lektüre von A. Meyers Untersuchungen über die Eigenschaften der Fetttropfen (11) belehrte mich, daß der Autor wohlorientierte Versuche eingeleitet hatte, daß aber die Ergebnisse nicht bewiesen, ob die Granula wirklich aus dem Bakterienleib herausgelöst waren. Die Annahme von „Vakuolen“, aus denen der Inhalt herausgelöst sei, beweist in diesem Falle nichts. Auch gestalten sich für unsere heutigen chemischen Arbeitsmethoden diese Versuche noch zu schwierig.

Weit mehr Erfolg verspricht der zweite Weg.

Voran gingen erwähnenswerte Versuche, die sich damit befaßten, die Einwirkung einer gleichmäßigen Hitze von 65° C auf Oxydase und Granula in den Bakterien zu studieren. Kramer hat hierüber gleichfalls Versuche beschrieben, sich jedoch nur kurz gefaßt. Es wurden dazu drei Stämme, *B. pyocyaneus*, *B. anthracis* und *B. mycoides*, und zwar je eine junge und eine alte Kultur von 10-stündigem bzw. mehrtägigem Wachstum auf Nähragar gewöhnlicher Art gewählt. Vor Einstellen derselben in den Ofen, der durch Thermoregulator auf 65° gehalten wurde, wurden alle 6 Kulturen makroskopisch und mikroskopisch geprüft. Ueber die dabei gewonnenen Resultate klärt uns nachstehende Zusammenstellung auf:

- I = *B. pyocyaneus*. Junge Kultur (10 Stunden alt).
- II = *B. „* 3mal 24 Stunden alte Kultur.
- III = *B. anthracis*. Frisch von der Maus (10 Std. auf gewönl. Nähragar).
- IV = *B. „* 3mal 24 Stunden alte Kultur.
- V = *B. mycoides*. Junge Kultur (10 Stunden alt).
- VI = *B. „* 3mal 24 Stunden alte Kultur.

a) Indophenolsynthese makroskopisch beobachtet; Intensität der Bläuung:

I = ++; II = +++; III = ++; IV = +++; V = +; VI = +++.

b) Mikroskopische Prüfung an demselben Präparat (nach Vornahme der Synthese).

(Ein kleines Stückchen von der Kultur wurde aus dem Tropfen auf dem Objektträger herausgefischt und im hängenden Tropfen mikroskopiert.)

I Granula sehr klein, aber ziemlich regelmäßig bei allen Individuen angeordnet.

II Granula bedeutend größer, doch gleich an Zahl wie bei I.

III Viele sehr kleine, vereinzelt ein paar große Granula.

IV Viele große Granula, sehr vereinzelt kleine. Relativ gleiche Anzahl Körnchen in den Individuen, wie bei III.

V Viele kleine Granula.

VI Große Granula; analog dem Milzbrand.

c) Prüfung auf Granula ohne jede Färbung und Reaktion. Zu sehen durch hohe, resp. tiefe Einstellung im Mikroskop.

I—VI Analog dem mikroskopischen Bild an dem Präparat, bei dem durch die Indophenolsynthese die Granula sichtbar gemacht waren. Nur bedeutend weniger Granula zu sehen; die ganz kleinen Granula fast gar nicht.

d) Bemerkung.

III und IV Bei Milzbrand wurden die beiden Kulturen ultramikroskopisch untersucht. Dabei waren alle Granula wie bei der Indophenolreaktion zu sehen.

Nach diesen Feststellungen wurden die Kulturen ca. 40 Stunden der Einwirkung der Hitze ausgesetzt und alsdann nochmals derselben Untersuchung unterzogen. Die Indophenolsynthese versagte, es wurde also kein Farbstoff gebildet und die Körnchen blieben ungefärbt. Die statt ihrer angewandte Färbung mit festem Indophenol (Grübler) in 50-proz. alkoholischer Lösung gab uns, was die mikroskopische Prüfung betrifft, dieselben Resultate, wie die Synthese am Material, bevor es der Hitze ausgesetzt wurde (b I—VI). Ebenfalls wies die Prüfung (c) auf Granula ohne Färbung und Reaktion die gleichen Ergebnisse auf.

Aus dieser Versuchsreihe lassen sich die Feststellungen anderer Autoren nochmals bestätigen, daß es sich um lipide Tröpfchen handelt, die die Oxydase in sich enthalten können, und die sicher selbst als sekundäre Zellprodukte anzusehen sind.

Es war zu gleicher Zeit zur Züchtung der genannten Bakterienstämme, *B. pyocyaneus*, *B. anthracis* und *B. mycoides* je einer jungen und einer alten Kultur auf fettfreiem Nährboden geschritten worden.

Der Nährboden gab uns eine Zusammenstellung ab, die von Uchinsky im Prinzip festgelegt, doch von Voges und Fränkel (s. Lehmann-Neumann) wesentlich vereinfacht war.

Zu 1 Liter wurden gelöst:

- 5 g Kochsalz,
- 2 g neutrales käufliches Natriumphosphat,
- 6 g milchsaures Ammoniak,
- 4 g Asparagin.

Wie weiter angegeben, wachsen *B. mycoides* und *B. pyocyaneus* sehr gut darauf; Milzbrand dagegen schwach.

Um diesem Nährboden Konsistenz zu verleihen, ließ ich die entsprechende Menge Agar zufügen, dann auf Röhrchen füllen, diese sterilisieren und schräg legen. War das Wachstum auf diesem fettfreien Nährboden dem auf gewöhnlichem Agarnährboden auch nicht annähernd gleich zu nennen, so konnte ich doch von Zeit zu Zeit eine Platinöse voll Material abtragen.

Meine genauen Aufzeichnungen an dieser Stelle niederzulegen, würde zu weit führten, zumal uns dieser Weg auch nicht vollgültig zum Ziele brachte. Eine kurze Zusammenstellung hebt das Wesentliche daraus hervor. Diese Untersuchungen liefen den Versuchen, die am erhitzten Material vorgenommen wurden, parallel und es wurden bei ihnen die gleichen Methoden zur Anwendung gebracht. Die Kulturen bestanden wie vorher aus:

- I = *B. pyocyaneus*. Junge Kultur (10 Stunden alt).
- II = *B. „* 3mal 24 Stunden alte Kultur.
- III = *B. anthracis*. Kultur jung (frisch vom Tier, virulent), 24 Stunden lang auf dem fettfreien Boden gewachsen.
- IV = *B. „* Aeltere Kultur von 3mal 24 Stunden.
- V = *B. mycoides*. Junge Kultur (ca. 10 Stunden alt).
- VI = *B. „* 3mal 24 Stunden alte Kultur.

Die Kulturen waren bis auf die virulente Milzbrandkultur, die direkt von der Maus auf den fettfreien Nährboden kam, als ca. 6 Stunden alte



Agarstrichkulturen gewachsen, von wo sie auf die Röhren mit dem fettfreien Nährboden ausgestrichen wurden.

Die Ergebnisse waren:

Indophenolreaktion	
makroskopisch:	mikroskopisch im hängenden Tropfen:
I—VI: Relativ schwache, doch positive Reaktion.	Bei jungen und alten Kulturen viele kleine Granula, nur vereinzelt große.

Wir können hierbei feststellen, daß die Intensität der Oxydase-reaktion in engem Zusammenhange steht mit der Größe der Granula. Das spricht für die Granulahypothese; Beweiskraft hat diese Tatsache indes nicht, denn man kann einwenden, daß die Bläuung nur von der Quantität der gefärbten Lipoidsubstanz abhängt, die um so intensiver ist, je mehr Granula vorhanden resp. je größer sie sind. Ich ziehe indes vorstehenden Schluß weniger aus der Bläuung des Rasens, sondern daraus, wie sich die Bläuung des die Bakterien umgebenden Gemisches in den verschiedenen Fällen verhält. Und dasselbe scheint mir bei diesen Versuchen in viel geringerem Maße gebläut zu sein. Derartige Beobachtungen lassen sich nur nach längerem, routinierten Arbeiten machen.

So schien denn auch dieser zweite Weg zu endlosen Versuchen ohne Resultate auszuwachsen zu wollen. Es wurden darum diese Versuche vorderhand abgeschlossen, als es mir gelang, den dritten Weg zu beschreiten, und die Methylenblaureaktion auf das bakterielle Gebiet zu übertragen, die vorstehend genannten Anforderungen in weitgehendstem Maße Genüge zu leisten versprach.

#### Die Methylenblaureaktion.

Ausgehend von der Tatsache, daß das Indophenolblau ein in Eiweiß völlig unlösliches Produkt ist, aber ein Farbstoff, der darum um so mehr ein vorzüglich geeignetes Reagens auf Fett ist; ferner, da alle Untersuchungen ergeben haben, daß unsere Granula eine ausgesprochen lipoid Natur besitzen, war die Färbung mit Indophenolblau resp. die Indophenolsynthese ein unbrauchbares Mittel, um zu den im folgenden Kapitel dieser Arbeit versuchten Beweisen der Theorie, daß die Granula im Bakterium wirklich Substanzen mit sauerstoffübertragenden Eigenschaften enthalten, zu gelangen. Es mußte demgemäß nach einem Reagens gesucht werden, das im Lipoid wie im Eiweiß mindestens gleichmäßig löslich ist, oder, was noch besser ist, die Leukoverbindung eines Farbstoffs, der in Fett unlöslich, dagegen im Eiweiß, also im Cytoplasma, leicht und homogen löslich ist. In diesem Falle war die Behauptung bewiesen, wenn es mikroskopisch sichtbar zu machen war, daß die Herde der Oxydation in den Granulis liegen, und daß sich, von diesen ausgehend, der Farbstoff immer weiter in das für ihn homogene Cytoplasma ausbreitete. Welchen Wert ich der Unlöslichkeit dieses geforderten Reagenzes im Lipoid beimesse, darüber sei mir gestattet, mich später zu äußern.

So fand ich denn in den Arbeiten von Unna (20, 21) eine Reaktion, die sich auf das bakterielle Gebiet übertragen ließ, und die meines Erachtens vorzüglich den gestellten Anforderungen entspricht. In der erstgenannten Arbeit „Zur Chemie der Haut“ gibt Unna eine Anzahl chemisch wichtiger Details, die ich, soweit sie für meine Untersuchungen von Wichtigkeit sind, zitieren will:

„Methylenblau wird durch stark reduzierende Mittel in Methylenweiß, die Leukobase des Methylenblaus, umgewandelt. Das Produkt ist äußerst empfindlich gegen Luftsauerstoff, besonders bei Belichtung. Es oxydiert sich dann und geht in die beständigere blaue Verbindung zurück. Man kann diese rasche Oxydation verhindern durch Aufbewahren des Methylenweißes im Ueberschuß des reduzierenden Stoffs, wodurch die oxydierende Wirkung der Luft paralysiert wird.“

Als Reduktionsmittel wurde von Unna Rongalit, das Natriumsalz der Sulfoxylsäure in Verbindung mit Formaldehyd (dargestellt durch Reduktion der Formaldehydverbindung der schwefligen oder hydro-schwefeligen Säure) angegeben. Methylenblau und Rongalit werden nun gegeneinander zur Einwirkung gebracht, und es resultiert ein Produkt, das, wie erwähnt, Leukomethylenblau neben überschüssigem Rongalit enthält. Als solches konnte ich die Lösung in gebrauchsfertigem Zustande von Grübler erhalten. Weniger wichtig, aber erwähnenswert sind die Vorteile, die dieses Reagens vor den Lösungen des Dimethyl-p-phenylendiamins und des -Naphtols besitzt, vor allem seine scharfe und schnelle chemische Wirkung, seine lange, unveränderte Haltbarkeit und nicht zuletzt die Einfachheit in seiner Anwendung.

Die Arbeitsweise, die gleichzeitig eine wesentliche Vereinfachung in der Anwendung gegenüber den verschiedenen Manipulationen, die man bei Anwendung der Indophenolreaktion auszuführen hat, in sich birgt, ist folgende:

$\frac{1}{2}$  Platinöse Bakterienmaterial wird in einem kleinen Häufchen auf einen Objektträger gebracht und mittels eines sauberen und trockenen Glasstabes 1 Tropfen Rongalitweiß (nach Unna Bezeichnung für Leukomethylenblau-Rongalit) auf die Kultur getropft. Nach einigen Sekunden sieht man das Gemisch sich durchweg bläuen, und am intensivsten bläut sich das Bakterienhäufchen. Nach 1—2 Minuten hat die Reaktion ihren Höhepunkt erreicht und man fertigt zur mikroskopischen Untersuchung einen Hängetropfen an, indem man ein wenig von dem Material auf ein Deckglas bringt und dasselbe über einen hohlen Objektträger deckt. Die Untersuchung geschieht natürlich mit Immersion.

Zur Verfolgung des Verlaufs der Reaktion unter dem Mikroskop ließ ich das Rongalitweiß auf eine Spur Bakterienmaterial im hängenden Tropfen einwirken. (S. Tafelabb. II a—d.)

Beobachtete ich, dann sah ich folgendes. (Als Versuchspräparat für diesen Fall sei Milzbrand genannt. Bis das Präparat fertig dargestellt und unter dem Mikroskop eingestellt war, vergingen natürlich einige Augenblicke, so daß die Reaktion bereits eingetreten war.) In den Bacillenfäden traten blaue Granula auf, und zwar dieselben, die vor dem Versuch als Indophenolgranula identifiziert waren. Kleinste und größere. Dieselben sind nicht so scharf konturiert zu sehen, wie die, die bei der Indophenolblaureaktion erhalten wurden. Beobachtet man länger, so sieht man den Farbstoff, von den Granulis ausgehend, sich ausbreiten und allmählich das Cytoplasma diffus bläuen. Diese Bläung schreitet stets weiter fort und wir sehen schließlich die Granula — wenigstens die großen, die kleinen verschwinden allmählich im diffusen Blau — heller von dem sie umgebenden, blau gefärbten Plasma sich abheben.

Diese Beobachtung verlangt nun eine sehr genaue Deutung. Bekanntlich ist das Methylenblau in Fetten und Oelen unlöslich, vermag dieselben also nicht anzufärben. Unsere Granula bestehen aus lipoiden Substanzen und das Methylenblau ist deshalb auch in ihnen nicht löslich.

Und doch sieht man die Granula zuerst als blaue Körner im hellen Cytoplasma erscheinen. Um die Granula bildet sich also, sobald das Leukoprodukt an sie hindiffundiert ist, das erste Methylenblau, und zwar werden die Körnchen, da sie nicht ganz an die Membran des Bakteriums anstoßen, durch den allseitig um sie herum gebildeten Farbstoff als blaue Kugeln erscheinen. Diese Vorgänge spielen sich sowohl um die großen wie die kleinen Granula ab. Bei weiterem Fortschreiten der Reaktion durchdringt der Farbstoff, ausgehend von der Schicht um die Granula, das ganze Cytoplasma, und hüllt, da die Bildung desselben durch die Oxydasewirkung stets fortschreitet, die kleinen Granula völlig ein, so daß sie im Bakterium völlig verschwinden. Jetzt erscheinen die großen Granula hellblau im dunkelblauen Plasma, weil sie als völlig ungefärbte Kugeln über sich und unter sich bezüglich der Bildebene im Mikroskop eine relativ dünnere Methylenblauschicht haben. Der Vorteil der Unlöslichkeit des Farbstoffs im Granulum selbst liegt darin, daß wir wenigstens bezüglich der großen Granula deutlich noch ihre Lage im Plasmaleibe wiedererkennen können. Die eben beschriebenen Erscheinungen waren beim Milzbrand sehr scharf kontrastiert, bei Pyocyaneus, Cholera usw. weniger schön zu erkennen. Wir können demgemäß darauf schließen, daß die Granula wirklich die sauerstoffübertragenden Fermente, die Oxydasen, in sich enthalten, und daß an der allmählichen Bildung des Farbstoffes durch das Cytoplasma von wohlcharakterisierten Herden, den Granula ausgehend, ersehen werden kann, daß die Oxydasen sich im Plasmaleibe nicht befinden.

Um die Granula herum bildet sich also, wie beschrieben, zuerst der Farbstoff. Es bleibt an dieser Stelle noch zu erörtern, an welcher Stelle im Granulum das Oxydaseferment sich befindet. Die eine Lösung dieser Frage wäre die Annahme, die Lipotide enthielten (neben Lipase auch) Oxydase in sich gelöst oder mit sich gemischt. Andererseits aber auch ist die Auffassung möglich, daß die Fermente das Granulum gleichsam als ein Häutchen umgeben, so daß an der Peripherie desselben, der Stätte höchster Wirksamkeit, allein auch die wirkenden Stoffe, die Fermente sich befinden. Es sind dies zwei Annahmen, die beide gleiche Berechtigung haben. In der bakteriologischen Literatur ist indessen weder die eine, noch die andere Annahme theoretisch oder praktisch diskutiert. Ich möchte dazu bemerken, daß es für den Nachweis der Fermentlokalisation gleichgültig ist, ob Ferment und Lipoid durch Mischung vereint, oder ob beide völlig getrennt an derselben Stelle, also im Granulum sich befinden.

Diese Oxydasegranula, die nach bereits erwähnten Arbeiten sich auch im tierischen Gewebe vorfinden, können mit den letzteren sicher verglichen werden. Es hat nämlich Gräff (7) bei seinen Untersuchungen gefunden, daß die Lipoidtröpfchen Adnexe an die Oxydasegranula seien, daß mithin eine wohldefinierte Trennung bestehe zwischen Ferment und assimilierter Substanz. Es ließe sich diese Hypothese mutatis mutandis auch für unsere Granula in Vorschlag bringen, wenngleich ich mir bewußt bin, die Tröpfchen stets als einheitliches Ganzes ohne Adnexe oder als Doppeltropfen gesehen zu haben.

Um jedem Mißverständnis vorzubeugen, sei nochmals erwähnt, daß die Granula als Sitz des Oxydaseferments anzusehen sind, daß damit indessen über den Ort ihrer Bildung nichts ausgesagt sein soll.

Daraus folgen nun die Kontrollproben an verschiedenen Bakterienstämmen zur Erweiterung der Kenntnis dieser Reaktion.

Es wurden also von den im Institut mir zur Verfügung stehenden Stämmen folgende in angegebener Weise mit Rongalitweiß behandelt und untersucht. Die Kulturen hatten sämtlich ein Alter von 24 Stunden.

*B. anthracis.*

Reaktionseintritt nach 3 Sekunden. Wie vorstehend beschrieben, sind deutlich die Herde der Sauerstoffüberträger sichtbar. Ein besonderer Vorteil ist es bei dieser Reaktion, daß es möglich ist, die Einzelindividuen im Faden zu beobachten, eine Tatsache, die bei der Indophenolreaktion leider vermißt wird.

*B. pyocyaneus.*

Ein schönes Beispiel für die Oxydasewirkung. Die Granula liegen bei den meisten Individuen je eins an den Polen und in der Mitte eins bzw. zwei, was eine große Regelmäßigkeit in der Anordnung bedeutet. Reaktionseintritt nach 2 Sekunden. Die Oxydasewirkung des Bacillus ist stark.

*V. albensis.*

Zeigt gleichfalls starke Oxydasewirkung. Eintritt der Reaktion nach 3 Sekunden. Fällt auch durch die regelmäßige Anordnung seiner Granula auf.

*V. cholerae.*

Auch ein gutes Objekt mit schnellem Reaktionseintritt (3 Sekunden). Die Individuen sind gleichfalls granuliert.

*B. typhi.*

Reaktionseintritt nach 10 Sekunden. Das mikroskopische Bild zeigt die Individuen granuliert.

*B. paratyphi.*

Reaktionseintritt nach 20 Sekunden. Mikroskopisches Bild: Individuen granuliert.

*B. dysenteriae.*

Gezüchtet auf Ragitagar. Reaktionseintritt nach 10 Sekunden. Mikroskopisches Bild: Granuliert. Bei einem Vergleich mit Kramers Ergebnissen fällt mir auf, daß die beiden Stämme, *B. paratyphi* und *B. dysenteriae*, keine Reaktion mit Indophenol gegeben haben sollen. Es gelang mir indessen doch, Granulierung und Oxydationswirkung mit der Indophenolsynthese hervorzurufen, wenn dieselbe auch sehr schwach war. Auch das mikroskopische Bild am Indophenolpräparate zeigte Granula.

*B. coli.*

Zeigt Reaktionswirkung, indes langsam. Reaktionseintritt nach 20 Sekunden.

*B. prodigiosus.*

Ziemlich starke Oxydationswirkung. Mikroskopisches Bild: Sehr regelmäßig, auch polständig angeordnete Granula. Reaktionseintritt nach 5 Sekunden.

*B. mycoides.*

Gibt positive Reaktion. Eintritt derselben nach ca. 5 Sekunden. Das mikroskopische Bild zeigt deutliche Granulierung.

*B. subtilis.*

Gibt Oxydation. Das mikroskopische Bild läßt die Granula deutlich erkennen. Reaktionseintritt nach 5 Sekunden.

*B. vulgatus.*

Es ist starke Oxydationswirkung zu verzeichnen. Eintritt derselben nach 3 Sekunden. Das mikroskopische Bild zeigt granuliert Individuen.

Es war wünschenswert, zu probieren, ob sich nicht haltbare Präparate von diesen Objekten darstellen ließen. Leider konnte ich die Indophenolgranulapräparate nicht erhalten, obwohl ich mit dem mir empfohlenen, sehr indifferenten Medium Natriumwasserglas Versuche angestellt hatte, die mich zu durch etwa 14 Tage hindurch leidlich haltbaren Präparaten brachten. Dann waren die Granula verblaßt und nur noch als stärker lichtbrechende Tröpfchen zu erkennen. Auch gaben die frisch eingebetteten Präparate lange nicht die schöne, scharfe Zeichnung wieder, die im hängenden Tropfen sichtbar gemacht werden konnte.

Anders die diesbezüglichen Versuche, die ich an Rongalitweißpräparaten unternahm. Bei raschem Arbeiten war es mir gelungen, fast alle Stadien der Reaktion im eingebetteten Präparat zu fixieren, wenn ich auch leider zugeben muß, daß die Präparate nicht ganz so ausfallen wollten, wie die, die ich bei meinen Versuchen uneingebettet untersuchte. Immerhin scheint ihre Haltbarkeit eine gute zu sein, da sie nunmehr nach gut 1 Jahre von ihrem ursprünglichen Aussehen noch nichts eingebüßt haben. Die Präparate wurden in der Art angefertigt, daß auf dem Deckglas ein sehr schwacher Ausstrich sofort mit Rongalitweiß versetzt, nach Bläuung unverzüglich kurz fixiert und in Kanadabalsam eingeschlossen wurde.

An dieser Stelle möchte ich noch auf den Einwand zu sprechen kommen, den Eisenberg hinsichtlich der Erythrocyten, die mit Indophenolreaktion behandelt waren und sich selbst nicht bläuten, machte. Versuche, die ich darüber mit Rongalitweiß anstellte, zeigten mir, daß es leichtest erreichbar war, die Hämoglobinträger durch die Reaktion schön satt blau zu färben, so daß sich auch hier noch einmal feststellen läßt, daß das Rongalitweiß wirklich ein zum Nachweis sauerstoffübertragender Elemente vorzüglich geeignetes Reagens ist. Es wäre übrigens empfehlenswert, über diese Reaktion am Blute weitere Versuche anzustellen, da auch, soweit ich das übersehe, die anderen Arten von Blutkörperchen wohldifferenziert erscheinen.

Nunmehr interessierte es, ein Bakterium, das gute Oxydasewirkung und mikroskopisch Granulierung zeigte, zu einem Vergleich zwischen der Indophenolsynthese und der Rongalitweißreaktion heranzuziehen. Als Objekt dieser Untersuchungen wurde der Milzbrandbacillus gewählt.

Ein sehr virulenter Stamm, der gerade 3 Tierpassagen hinter sich hatte und 1 Tag auf gewöhnlichem Nähragar gewachsen war (als Ausstrich vom Blute der Milz), wurde auf einige Röhren mit schräg erstarrtem Nähragar ausgestrichen. Diese Röhren wurden 12 Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten, und dann die Versuche in Abständen von 1 Tage ausgeführt. 12 Stunden nach der Impfung fiel der erste Versuch. Die Ausgangskultur wurde sofort in den Ofen von 65° eingestellt, um bei dem ersten Versuche gleichzeitig eine Kultur zur Hand zu haben, bei der die Fermente durch Hitze inaktiviert waren. Diese Kultur verblieb bis zum Ende der Versuche im heißen Ofen stehen und wurde nur zur Untersuchung herausgenommen. Von den von der Ausgangskultur abgeimpften Agarröhren wurde eine Röhre für 24 Stunden (nach 12-stündigem Wachstum bei 37° zusammen mit den anderen) der Einwirkung der Hitze ausgesetzt und für die übrigen Tage kühl aufbewahrt. Die Tabelle zeigt die nunmehr ausgeführten Versuche in schematischer Anordnung. Aus den ihr zu entnehmenden Werten ergeben sich folgende Erwägungen:

Die Indophenolsynthese und die Rongalitweißreaktion ergeben einander völlig analoge Werte.

Indophenolblausynthese							Indophenolblaufärbung
Tag	Reaktionszeit		Relative Größe der Granula	Relative Anzahl der Granula	No. der Abbildungen auf der Tafel	Bemerkungen zur Reaktion	Bemerkungen zur Färbung des Materials durch den in 50-proz. Alkohol gelösten Farbstoff
	Eintritt Sekunden	Optimum Minuten					
0							
1	15	7	sehr kleine und große	Ihre Anzahl bleibt sich durch alle Versuche gleich	Ia	Das Gemisch, das die Bakterien enthält, wird nur wenig stärker gebläut als dasjenige ohne Material, das zur Kontrolle die gleiche Zeit an der Luft stehen gelassen wurde	Das mikroskopische Bild zeigt die Granulierung analog der bei der Reaktion
2	15	7	wenig ganz kleine, mehrere große		Ib		
3	15	7	große		Ic		
4	15	7	große		Id		
5	15	7	große ab zu kleine		Ie		

Rongalitweißreaktion					Erhitzte Kultur
Tag	Reaktionszeit		Relative Größe der Granula	Relative Anzahl der Granula	65° C
	Eintritt Sekunden	Optimum Minuten			
0					
1	3	30	sehr kleine Herde	Gesamtzahl bleibt sich gleich und ist analog der Indophenolblaureaktion zu stellen	Bei Indophenolblaufärbung.
2	3	30	durchweg größere Herde		Tägliche Untersuchung: Kleine Granula, auch größere
3	3	30	dgl.		Bei Indophenolreaktion.
4	3	30	dgl.		Tägliche Untersuchung: Keine Reaktion
5	3	30	dgl.		Rongalitweißreaktion. Tägliche Untersuchung: Reaktion anfangs stark gehemmt <sup>1)</sup> (12 Stunden Kultur)

Die Zeit, die bis zum Eintritt der Reaktion verläuft, bei der Indophenolsynthese 7 Sekunden, bei der Rongalitweißreaktion 3 Sekunden, ist für alle Versuchstage die gleiche geblieben. Dasselbe gilt für das Optimum der Reaktion. Es ist erreicht bei ersterer nach 7 Minuten, bei letzterer nach 30 Sekunden. Wir erkennen daraus, daß die Wirkungszeit der Oxydase konstant ist und unabhängig von den folgenden Werten,

1) Die ständig auf 65° C gehaltene Kultur zeigte bei täglicher Untersuchung keine Reaktion mit Rongalitweiß mehr.

die die Größe und Anzahl der Granula relativ bestimmen. Hinsichtlich der Reaktionen selbst läßt sich feststellen, daß wir in der Rongalitweißreaktion eine wesentlich schärfere Reaktion zu verzeichnen haben, als bei der anderen.

Beobachten wir die Größe unserer Granula, so sehen wir bei dieser Reihe eine Zunahme am Volumen, die in den ersten beiden Tagen zu dem Alter der Kultur in gleichem Verhältnis steht, dann aber nicht weiter fortschreitet. Fanden sich zu Anfang, wie wir das aus der Tafel Abb. Ia erkennen können, in den Bakterienfäden nur kleine und ganz große Granula, so sieht man in den beiden folgenden Tagen das Volumen der kleinen Granula dem der großen sich nähern (Abb. Ib und Ic). Dieses Wachstum schreitet fort, bis die Granula annähernd gleich groß geworden sind (Abb. Id und Ie), was während der folgenden Tage zu beobachten ist. Am 5. Tage setzt die Sporenbildung ein (Ie). Eine weitere Verfolgung der Versuche hier aufzuschreiben ist zwecklos. Zu erwähnen ist, daß später die Granula weder sich vergrößerten noch zahlreicher wurden, doch bildeten sich sehr viele Sporen und teilweise Involutionsanfänge. Auch traten ab und zu wieder junge Individuen auf, die ganz kleine Granula zeigten. Die Indophenolblaureaktion leistete mir hinsichtlich dieser Feststellungen bessere Hilfe als die Rongalitweißreaktion.

Die Färbung mit Indophenolblau (Grübler, gelöst in 50-proz. Alkohol und filtriert) läßt uns alle Details in gleicher Weise wie bei der Synthese erkennen. Es folgert sich daraus, daß lipoide Substanzen schon von Anfang an vorhanden sind.

Die Zahl der Granula, die in allen Reihen, bei der Indophenolblausynthese oder der Färbung mit dem fertigen Farbstoff oder der Rongalitweißreaktion, sich relativ gleichbleibt, spricht uns von einer ziemlich gleichmäßigen Verteilung der Oxydaseherde.

Die den Bakterienrasen auf dem Objektträger umgebende Lösung des Gemischs Dimethyl-p-phenylendiamin und  $\alpha$ -Naphthol einerseits und die Rongalitweißlösung andererseits wurden hinsichtlich ihrer Färbung jeweils mit einem Tropfen Reagens verglichen, der ohne jeglichen Zusatz von Bakterienmaterial die gleiche Zeit der freien Luft ausgesetzt wurde. Das Indophenolkomponentengemisch, das den Bakterienrasen umgab, war trüber blau als das zur Kontrolle herangezogene reine, das sich fast unmerklich in der Versuchszeit bläulich getrübt hatte. — Die Rongalitweißlösung mit den darin aufgeschwemmten Bakterien wurde stark gebläut im Gegensatz zur reinen Lösung, so daß wir aus diesen Ergebnissen auf eine befriedigend positive Wirkung der Oxydase blicken können. — Die geringen Unterschiede in der Trübung bei dem reinen und angewandten Gemisch der Indophenolkomponenten liegen natürlich in der Unlöslichkeit des Farbstoffs im Medium Wasser begründet. Um den Unterschied in der Bläuung trotzdem sichtbar zu machen, fügte ich gelegentlich eines Versuchs einen Tropfen Alkohol den beiden Lösungen zu, konnte ihn dann auch dabei mühelos erkennen.

Die Kultur, die vom ersten Tage an der Hitze ausgesetzt war, zeigte bei täglicher Prüfung keine Oxydasewirkung mehr; auch ein Weiterzüchten war nicht möglich. Die ungleich schärfere Rongalitweißlösung wurde dagegen von der Kultur, die nur 12 Stunden der Hitzeeinwirkung unterworfen war, nach Verlauf mehrerer Minuten gebläut, ein Zeichen, daß die Fermente nicht völlig inaktiviert waren. Ueberimpfen auf neuen

Agar und Fortzüchten im Brutschrank ließ denn auch in der Folge wieder Koloniebildung zu.

Die Indophenolfärbung fand die Individuen an allen Tagen so granuliert wie am ersten Tage, ein Beweis, daß die Fermenttätigkeit eingestellt worden war.

Ich glaube, daß es mir in dieser Arbeit gelungen ist, den Nachweis zu führen, daß die oxydierenden Fermente im Bakterium in den Granula neben anderen Elementen enthalten sind und nicht im Cytoplasma.

### **Zusammenfassung der Ergebnisse.**

1) Ich ließ das Gemisch der Komponenten  $\alpha$ -Naphthol und Dimethylparaphenylendiamin in Dampfform auf die im hängenden Tropfen aufgeschwemmte Bakterienkultur einwirken, um störende Niederschlagsbildung bei Anwendung der Indophenolreaktion zu verhindern. Es gelang auf diese Weise, eine einwandfreie Indophenolblaureaktion der Granula zu erzielen.

2) Es wurden Versuche angestellt, die Bakterien an eine Farbstoffkomponente ( $\alpha$ -Naphthol) zu gewöhnen durch Beimischung derselben zu dem Nährboden. Es gelang auf diese Weise durch Ueberimpfung von Bakterien, die an geringe Naphtholkonzentration des Nährbodens gewöhnt waren, auf Böden mit höheren Konzentrationen die Individuen zum Wachstum zu bringen. Die Kulturen der Böden verschiedenen Naphtholgehaltes ergaben bei Zusatz der anderen Komponente, Dimethylparaphenylendiamin, eine quantitative Steigerung der Granulabläueung.

3) Es wurde der Nachweis geführt, daß die beschriebenen Granula der Ort sind, von welchem die Oxydationswirkungen ausgehen. Die Granula bestehen nicht aus einer einheitlichen Substanz in chemischem Sinne, sind also weder reine Fette oder Lipide noch reine Fermente, sondern man hat sich alle diese Körper vereinigt im Granulum zu denken. Ob die Granula durch und durch von Oxydaseferment durchsetzt sind, oder ob wir uns dasselbe nur an der Peripherie des Körnchens zu denken haben, ist für den in dieser Arbeit geführten Beweis belanglos. Der Nachweis selbst wurde mit Unnas Rongalitweiß geführt, das gestattet, den Oxydationsanfang bis zur völligen Bläueung des Bakterioplasmas zu verfolgen. Gleichfalls wurde dabei die Indophenolblausynthese nochmals einer genauen Durchprüfung unterzogen.

Die Untersuchungen wurden hauptsächlich am Milzbrandbacillus ausgeführt, zum Vergleich indes eine größere Anzahl Stämme herangezogen.

### **Nachtrag.**

Die Wirkung der Oxydase einerseits auf die Komponenten  $\alpha$ -Naphthol und Dimethyl-p-phenylendiamin, und andererseits auf das Rongalitweiß, wurde nach Englers Peroxydtheorie chemisch zu erklären gesucht. Die Veröffentlichung dieser Betrachtungen soll indes einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben.



**Literatur.**

- 1) Bunge, Ueber Sporenbildung bei Bakterien. (Fortschr. d. Med. Bd. 13. 1895.)
- 2) Dietrich, Naphtolblausynthese und Lipoidfärbung. (Centralbl. f. allgem. Pathol. u. path. Anat. Bd. 19. 1908. p. 1.)
- 3) — u. Liebermeister, Sauerstoffübertragende Körnchen in Milzbrandbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.)
- 4) Ehrlich, P., Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin 1885.
- 5) Eisenberg, Ueber Fetteinschlüsse bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909.)
- 6) v. Gierke, Die oxydierenden Zellfermente. (München. med. Wochenschr. 1911. No. 44.)
- 7) Gräff, Die Naphtolblau-Oxydasereaktion der Gewebszellen. (Frankf. Ztschr. f. Pathol. Bd. 11. H. 2/3.)
- 8) Grimme, Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.)
- 9) Kramer, Beiträge zum sofortigen Nachweis von Oxydations- und Reduktionswirkungen der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912.)
- 10) Liebermeister, siehe Dietrich u. Liebermeister.
- 11) Meyer, A., Die Zelle der Bakterien. 1912.
- 12) Mühlischlegel, Ein Beitrag zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien nach Studien an drei Körnerbacillen. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 15. 1899.)
- 13) Nakanishi, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1901.)
- 14) Preiss, Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.)
- 15) Regenstein, H., Studien über Anpassung von Bakterien an Desinfektionsmittel. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912.)
- 16) Reis, Die Katalase der Milch. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 56. 1905.)
- 17) Röhmman-Spitzer, Ueber Oxydationswirkungen tierischer Gewebe. (Chem. Ber. Bd. 28. p. 587.)
- 18) Schultze, W. H., Ueber eine neue Methode zum Nachweis von Reduktions- und Oxydationswirkungen der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910.)
- 19) Spitzer, siehe Röhmman-Spitzer.
- 20) Unna, Zur Chemie der Haut. (Dermat. Monatsh. Bd. 50. 1910.)
- 21) —, Die Reduktions- und Sauerstofforte des tierischen Gewebes. (Arch. f. mikroskop. Anat. Bd. 78. 1911.)
- 22) Vay, Studien über Strukturverhältnisse von Bakterien mit färbehaltigen Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910.)
- 23) Winkler, Der Nachweis der Oxydase in den Leukocyten mittels der Dimethylparaphenylendiaminalphanaphtolreaktion. (Folia Haematolog. 1907. p. 323.)

**Tafelerklärung.****Abbildung I.**

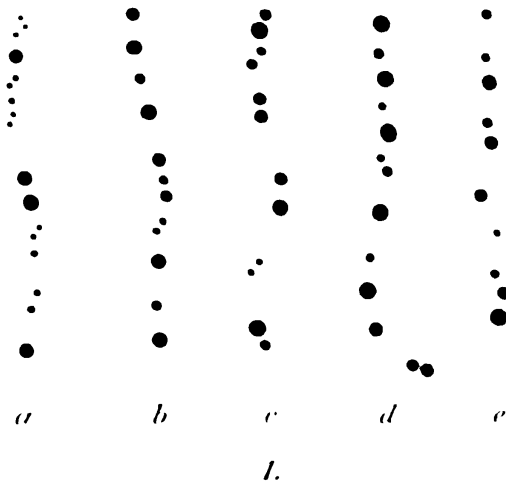
Indophenolblausynthese an Milzbrand. (Gehört als Illustration zu der Vergleichstabelle zwischen Indophenolsynthese und Rongalitweißreaktion. Die Angaben zur Zeichnung über die relative Größe und Zahl der Granula sowie über den Reaktionseintritt sind an genannter Stelle eingetragen.) a) 1. Tag, b) 2. Tag usw., e) 5. Tag nach Aufimpfung des Materials auf Nähragar. In e) Beginn der Sporenbildung.

**Abbildung II.**

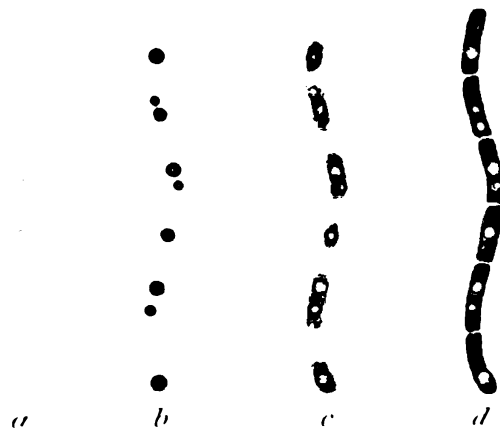
Der Verlauf der Rongalitweißreaktion an einem Milzbrandfaden:

- a) Ungefärbtes Präparat. Die Reaktion hat noch nicht oder kaum eingesetzt. Zur Orientierung über die stark lichtbrechenden Granula.
- b) Um die Granula herum bildet sich der erste Farbstoff; die Granula erscheinen als blaue Körnchen inmitten des noch ungefärbten Cytoplasmas.
- c) Ausgehend von den Granula schreitet die Ausbreitung des Farbstoffs fort.
- d) Der nunmehr in genügender Weise gebildete Farbstoff hat das gesamte Cytoplasma durchdrungen, dasselbe tief dunkelblau gefärbt und läßt die Granula infolge seiner Unlöslichkeit in denselben als helle Körnchen hervortreten.

Die Abbildungen sind mit dem Zeichenapparat von Abbe fast bildgetreu gezeichnet. Eine geringe Schematisierung erfolgte an einigen Stellen, wo es der Zweck der Abbildung unumgänglich erforderte.



1.



2.



*Nachdruck verboten.*

## Eine neue Form von Keratomykosis (Keratomykosis mucorina).

[Aus der Universitäts-Augenklinik in Siena. Direktor: Prof. Dr. A. Bietti.]

Von Dr. V. Cavara, Assistenten der Klinik.

Mit 2 Tafeln.

Seit Leber<sup>1)</sup> im Jahre 1879 die erste Beobachtung von Pilzinfektion der Cornea berichtet und durch seine klassischen Versuche die Möglichkeit der Pathogenität einiger Hyphomycetenarten festgestellt hat, wurden zahlreiche Fälle von Keratomykosis von den verschiedensten Autoren beschrieben, und die Literatur wurde so beträchtlich bereichert an klinischen Beobachtungen und experimentellen Untersuchungen. Aus diesen Experimenten ging klar hervor, daß *Aspergillus fumigatus* der Pilz ist, der sich bei weitem am häufigsten bei den Pilzaffektionen der Cornea findet, und wenn man von Keratomykosis spricht, so denkt man gewöhnlich an diesen Pilz. Die Keratomykosis aspergillina ist indessen auch heute noch eine ziemlich seltene Krankheit, und die Fälle, in denen sie durch Kulturverfahren sicher nachgewiesen wurden, belaufen sich jetzt auf 25; wenn man noch die Fälle hinzurechnet, in denen sie ohne mikrobiologische Untersuchungen nur mit großer Wahrscheinlichkeit diagnostiziert wurde, vermehren sich die bisher bekannten Beobachtungen auf wenig über 30.

In Anbetracht dieser Tatsachen drängt sich ganz von selbst die Frage auf, warum in Anbetracht der Leichtigkeit, mit der bei der allgemeinen Verbreitung des *Aspergillus* dieser mit der menschlichen Cornea in Berührung kommen kann, die Kasuistik der von ihm hervorgerufenen Hornhautaffektionen eine so spärliche ist. Jetzt sind sich alle Autoren, welche sich mit diesem Gegenstande beschäftigt haben, einig in der Auffassung, daß dies in der Hauptsache zwei Gründe haben muß. Vor allem ist als erste Bedingung für die Entstehung einer Keratitis aspergillina die Anwesenheit einer mehr oder minder tief gehenden Cornealäsion notwendig; der *Aspergillus* kann sich mit Sicherheit nicht in der intakten Cornea entwickeln, weil er keine festen Verwachsungen mit dem Cornealgewebe eingeht und Lidschlag und Tränenfluß ihn leicht wegschwemmen können. Es findet sich die Infektion daher allgemein im Zusammenhang mit einer Verletzung mit Erde oder pflanzlichen Fremdkörpern, und betrifft gewöhnlich Leute, die dem Bauernstande angehören.

Einen anderen Grund sucht man in der Tatsache, daß man manchmal leichte Formen von Keratomykosis findet, oder atypische, die leicht verwechselt werden können mit anderen Affektionen der Cornea bei einer oberflächlichen und nicht durch mikrobiologische Methoden bekräftigten Untersuchung. In einigen Fällen kann die Mykosis aspergillina verwechselt werden mit einem serpiginösen Geschwür der Cornea, wie das der Fall von Marx<sup>2)</sup> beweist, in anderen Fällen kann sie dem Aus-

1) Leber, Keratomykosis aspergillina als Ursache von Hypopyonkeratitis. (Graefes Arch. f. Ophth. Bd. 25. 1879. H. 2. p. 285.)

2) Marx, Zur Kenntnis der leichten Formen der Keratomykosis aspergillina. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jg. 49. 1911. Bd. 1. p. 361.)

sehen eines prominenten Infiltrates oder einer Keratitis fasciculata ähneln <sup>1)</sup>).

Bekanntlich unterscheidet man klinisch 2 verschiedene Formen von Keratomykosis aspergillina, verschieden unter sich und auch in ihrem Verlaufe, nämlich eine schwere Form und eine gutartige. Die schwere Form hat das Aussehen eines Geschwüres, das bedeckt ist mit einer Art graugelblichen, rauhen, trockenen und bröckeligen Exsudates, welches sich in der Mehrzahl der Fälle über das umstehende Gewebe erhob und von dem es durch eine Demarkationsfurche getrennt ist.

Bei den gutartigen Formen dagegen stellt sich die Affektion als eine weiß-gelbliche Erhebung dar, die rundlich, von rauher Oberfläche ist und direkt an die umgebende Cornea anstößt; ringsherum bemerkt man gewöhnlich eine ringförmig infiltrierte Zone. Ein Gefäßbüschel geht vom Limbus aus und wendet sich zu dem Infiltrat, um das herum es sich verästelt und Anastomosen bildet. Auch die gutartige Form stellt sich demnach als ein Sequester dar, der sich leicht wegnehmen läßt, eine Art von Cornealgeschwür hinterlassend, das sehr rasch heilt.

Neben diesen klinischen Beobachtungen fehlt es nicht an einer ganzen Reihe experimenteller Untersuchungen. Für die Cornea des Kaninchens fand Halbertsma<sup>2)</sup> auch den *Aspergillus flavescens* pathogen. Rollet und Aurand<sup>3)</sup> haben außerdem eine mäßige Pathogenität mit Sicherheit festgestellt für die Kaninchencornea für den *Aspergillus niger*, *A. ficum* und *A. Wentii*, eine ganz geringe für den *A. candidus*, während der *A. glaucus*, *ostianus*, *minimus*, *clavatus*, *varians*, *novus* sich als absolut unschädlich erwiesen haben.

Wenn auch der *Aspergillus fumigatus* ätiologisch der bei weitem häufigste Erreger der menschlichen Keratomykosis ist, so muß man immerhin bedenken, daß dieser Pilz nicht der einzige ist, der die Cornea affizieren und auf ihr weiterwuchern kann. Andere Pilze sind in gleicher Weise pathogen und für einige sind die klinischen Erscheinungen verschieden von denen der *Aspergillus*-Affektion.

Ellet<sup>4)</sup> und Wicherkiewicz<sup>5)</sup> berichten von 2 Fällen von Mykosis der Cornea, in denen sie den *Aspergillus niger* resp. das *Penicillium glaucum* isoliert haben. Die Beobachtung Ellets wurde indessen, da der Autor ohne nähere Angaben vom *Aspergillus niger* spricht, von Axenfeld<sup>6)</sup> und anderen angefochten. *A. niger* soll nach Paltauf<sup>7)</sup> nur für das Ohr pathogen sein.

Der Fall von Wicherkiewicz bezieht sich auf eine Patientin, die einen zentralen, weißlichen Fleck auf der Cornea zeigte mit Hypopyon und peripherer Vaskularisation. Die von Bujwid untersuchten Kulturen ergaben einen Pilz, in welchem man *Penicillium glaucum* zu erkennen glaubte. Auch diese Beobachtung wurde in Zweifel gezogen von verschiedenen Autoren (Kayser<sup>8)</sup>, Axenfeld<sup>9)</sup>, Morax<sup>10)</sup>), einestheils, weil *Penicillium glaucum* nach den Versuchen von Leber, Koch und Gaffky ein Organismus ohne Virulenz ist<sup>11)</sup>, theils weil der Autor nicht genügend eingehende Studien über den von ihm isolierten Pilz gemacht hat.

1) Einzig in der Literatur ist der neueste Fall von Verderame, bei dem an Stelle einer nekrotischen Zone sich ein nicht über die Oberfläche der Cornea prominentes Infiltrat fand, ohne die tiefe Demarkationsfurche. Das Infiltrat stieß sich nicht ab, wie das in den typischen Fällen stattfindet, sondern resorbierte sich allmählich, indem es als Residuum eine Hornhauttrübung hinterließ. Vgl. Verderame, Sulla cheratomicosi aspergillina. (Ann. d'Ottalm. T. 41. 1912. p. 223.)

2) Halbertsma, Hypopyonkeratitis door enting van *Asp. flavescens*. [Inaug.-Diss.] Utrecht 1888.

3) Rollet et Aurand, Nouvelles recherches sur les kératites aspergillaires. (Rev. génér. d'Opht. 1905. p. 530.)

4) Ellet, Aspergillar keratitis. (The Ophth. Rec. 1903.)

5) Wicherkiewicz, Ueber eine Schimmelpilzerkrankung der Hornhaut. (Arch. f. Augenheilk. Bd. 40. 1900. p. 361.)

6) Axenfeld, Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Jena 1907. p. 286.

7) Paltauf, in Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorgan. Bd. 1. 1903. p. 560.

8) Kayser, Ein Beitrag zur Kenntnis der Keratomykosis asperg. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jg. 41. p. 56.)

9) Axenfeld, loc. cit.

10) Morax, Mycose de la cornée causée par le *Verticillium Graphii*. (Ann. d'Ocul. T. 1910. p. 323.)

11) Dies bezieht sich selbstverständlich nur auf die gewöhnliche Form des *Penic. glaucum*, da speziell durch die Untersuchungen von Di Pietro bekannt ist, daß die in den Maiskörnern differenzierte Form toxische Eigenschaften hat. Vgl. Di Pietro, Studio morfologico e biologico sul *Penic. glaucum* (varietà tossica). Teramo 1904.

Interessanter und vollständiger ist die Beobachtung, die Baquis und Cardone<sup>1)</sup> auf dem 17. Kongreß der italienischen ophthalmologischen Gesellschaft mitteilten. Pat. hatte gegen das Zentrum der Cornea des linken Auges hin einen etwas erhabenen Fleck, der scharf begrenzt war an der temporalen Seite durch eine Furche und mit verwaschener Grenze nach der nasalen Seite. Es fehlte ein peripherer Infiltrationsring, wie bei der Keratomykosis aspergillina, es bestand weder Iritis noch Hypopyon. Die mikroskopische Untersuchung eines Teilchens des Fleckes zeigte, daß es von einem langfädigen Mycel ohne sporenbildende Organe gebildet war. Der Autor konnte diese Pilzart nicht identifizieren, da sie trotz zahlreicher Variationen der Kulturmethode unverändert ihren Typus beibehielt, ohne sporenbildende Organe zu zeigen, mittels derer seine Identität zu bestimmen gewesen wäre. Aus seinen allgemeinen Eigenschaften erwies es sich jedoch als wahrscheinlich, daß es sich um eine Schimmelform mit bisweilen bündelförmiger Verästelung, also vielleicht um ein *Verticillium* und wegen der Farbe um die Abteilung *Rubra* handelt. Gelegentlich dieser Mitteilung erwähnte De Bono<sup>2)</sup>, daß er einen analogen Fall beobachtet habe. Pat. zeigte seit langer Zeit eine Art Pseudomembran, wenig adhärent, fast über die ganze Cornea ausgebreitet, ohne jegliche Reaktion. Diese Pseudomembran bildete sich, nachdem sie weggenommen war, sehr rapid wieder. Die mikrobiologische Untersuchung offenbarte einen Pilz, der dem *Mucor mucedo* gleich. Ueberimpfung auf die Tiercornea blieb resultatlos.

Neuerdings hat dann Morax<sup>3)</sup> einen Fall von Keratomykosis beschrieben, charakterisiert durch einen weißlichen, feuchten, pseudomembranösen Fleck, der sich mit einer Platinöse leicht von dem darunterstehenden Gewebe lösen ließ. Von der Pseudomembran ließ sich ein Pilz kultivieren, den Pinoy mit *Verticillium Graphii* Harz-Bezold identifizierte. In Anbetracht der analogen klinischen Befunde seines Falles mit jenen von Wicherkiewicz, Baquis und Cardone, sowie von de Bono schließt Autor mit eingehender Begründung, daß auch in den von diesen Autoren angegebenen Fällen derselbe von ihm gefundene Keim im Spiele sei.

Diese Arbeit von Morax führt also zu dem Resultat, daß außer einer Keratomykosis aspergillina auch eine Keratomykosis verticillina existiert. Die Beobachtung, die ich selbst unten wiedergebe, beweist, daß es außerdem auch eine Keratomykosis mucorina geben kann.

B. Pascal, 22 Jahre alt, Landwirt aus Siena, stellte sich am 27. März 1912 zum ersten Male in dem Ambulatorium der Augenklinik vor mit folgenden Klagen: Leichte Photophobie und Gefühl eines Fremdkörpers im rechten Auge. Er erzählte, daß er vor ca. einer Woche bei der Arbeit durch eine Erdscholle am rechten Auge getroffen wurde. Pat. hatte keine wesentliche Störung infolge dieses Unfalles und arbeitete ruhig weiter. Einige Tage später bemerkte er ein unangenehmes Gefühl im betroffenen Auge, begleitet von leichtem Tränen. Da diese Erscheinungen anhielten, entschloß er sich, ärztliche Hilfe in Anspruch zu nehmen.

Die objektive Untersuchung ergab, entsprechend dem oberen äußeren Quadranten der Cornea, ungefähr ein Millimeter vom Limbus entfernt, das Vorhandensein einer weißen Erhebung, opak, ungefähr birnförmig, von der Größe eines Stecknadelskopfes mit deutlicher und bestimmter Umgrenzung. Ungefähr 1 mm von ersterem, längs einer um 45° zum Äquator der Cornea geneigten Linie, findet sich ein anderes prominentes Infiltrat, kleiner als das vorhergenannte, rundlich und mit den oben beschriebenen Eigenschaften (s. Fig. 1). Ein vom Limbus ausgehendes Gefäßbündel zieht nach den oben genannten Infiltraten sich verzweigend in immer feinere Verästelungen, die nach Bildung von Anastomosen um das erste Infiltrat zu dem zweiten weiterziehen. Untersucht man diese Prozesse mit der Linse, so bemerkt man, daß die Infiltrate ein trübes Aussehen haben und von nicht glatter Oberfläche sind, gleichsam einen Haufen kleiner Schollen von weißlicher Substanz bildend, und daß sie ganz oberflächlich sitzen. Ihre Grenzen sind glatt und die umgebende Cornea ist vollkommen transparent; es besteht keine Demarkationsfurche, kein infiltrierter Hof. Die Iris ist normal, die Pupille erweitert sich gut auf Atropin.

In Anbetracht dieses Krankheitsbildes, vermutete Prof. Bietti, der Gelegenheit hatte, 3 Fälle von gutartiger Mykosis aspergillina der Cornea zu beobachten (die Fälle von Kayser, Albertotti und Feruglio), daß es sich auch bei unserem Pat. um eine mykotische Affektion handelte. Er suchte mittels einer Nadel etwas Material weg-

1) Baquis e Cardone, Una nuova forma di cheratomicosi. (Ann. d'Ottalm. T. 34. 1905. p. 965.)

2) De Bono, Ann. d'Ottalm. 1905. p. 947.

3) Morax, loc. cit.

zunehmen, um davon Kulturen anzulegen; soweit man beobachtete, lösten sich die Infiltrate vollkommen vom Cornealgewebe los, eine kleine Konkavität hinterlassend, die ganz flach mit glattem Grunde war, wodurch die gestellte Diagnose gestützt wurde. Mit einem dieser Knötchen wurden Röhrchen mit Agar sowie Serumagar besät, mit dem anderen wurden Ausstrichpräparate auf zwei Objektträgern gemacht und der Rest in 6 Proz. Formol fixiert und in Paraffin eingebettet.

Die Untersuchung der beiden Ausstrichpräparate ergab eine bestimmte Zahl kurzer, dicker, manchmal verästelter Fäden inmitten polynukleärer Leukocyten und Corneal-epithelzellen. Es handelte sich offenkundig um Mycelfäden, aber bei dem Mangel an fruchtbildenden Organen war es nicht möglich, einen bestimmten Anhalt über die Art des Pilzes zu gewinnen.

Das in Paraffin eingeschlossene Teilchen wurde leider infolge der verschiedenen Manipulationen wegen seiner Kleinheit so verdorben, daß es keine brauchbaren Resultate gab.

Die Kulturen indessen bekräftigten die Resultate der Untersuchung der Ausstrichpräparate und bewiesen, daß der Pilz ein Phycomycet war. Nach 2 Tagen begann das beschickte Kultursubstrat sich mit einer Art Flaumfilz zu belegen, der darauf allmählich anwachsend die ganze Oberfläche des Nährsubstrates überzog. Nach 4 oder 5 Tagen erreichten die Kulturen den Höhepunkt ihrer Ueppigkeit, sie boten dann den Anblick eines schneeweißen Schimmelrasens, von dem aus feinste Fäden, ganz weiß wie Flaumhaare, senkrecht emporragten. Teilchen hiervon, mit Glyzerin ausgetrocknet und mit starker Vergrößerung untersucht, ergaben ein mattes Mycel, das Fortpflanzungsfäden, die in sporenhaltige Sporangien endigten, bildete. Es handelte sich also um fruchtbildende Organe eines Phycomyceten, und zwar einer *Mucor*-Art.

Der weitere Verlauf unseres Falles war ziemlich kurz. Pat. kam am folgenden Tag wieder in das Ambulatorium und es zeigte sich, daß der Heilungsprozeß, der um den 4. Tag vollständig wurde, bereits begonnen hatte. Zu diesem Zeitpunkt wurde Pat. entlassen; es blieben nur die Gefäße zurück, die viel feiner geworden waren und allein noch bezeugten, daß ein mykotischer Prozeß vorausgegangen war.

Ich habe den von der Cornea des Pat. isolierten Pilz einer genauen morphologischen und biologischen Untersuchung unterzogen, um ihn zu identifizieren, und habe versucht, die Keratomykosis bei Tieren hervor-zurufen. Die Resultate dieser Untersuchungen sind folgende.

### Morphologische Eigenschaften.

Die mikroskopische Untersuchung einer Kultur von festen Nährböden zeigt charakteristische Eigenschaften. Es ist empfehlenswert, die Untersuchung im frischen Zustande ohne irgendeine Färbung zu machen, indem man eine kleine Kulturmenge in ein Gemisch von Wasser und Glyzerin bringt, um die Elemente besser zu verteilen; denn in einfachem Wasser lassen sie sich nicht leicht isolieren.

Die Kultur erweist sich zusammengesetzt aus einem nicht sehr dichten, aber starren Mycel mit doldentraubenartig verzweigten Fruchthyphen, welche die Sporangien tragen. Der fruchthtragende Schenkel erscheint unterhalb des Sporangiums angeschwollen.

In ausgewachsenen Kartoffelkulturen (von 5—6 Tagen) ist der größte Teil der Sporangien offen, und man sieht die Columellen von etwas dunkler Farbe mit spärlichen Spuren der Sporangienmembran. Ein nicht offenes Sporangium (Fig. 3) hat eine glatte, durchscheinende Membran ohne Stachel, ist rund und von einem mittleren Durchmesser von 40—42  $\mu$ , die Columella ist 22—24  $\mu$ , das Fädchen 7—8 bis zu 12  $\mu$  breit. Es gibt indessen Sporangien von 50  $\mu$  und mehr, wie auch ganz kleine Sporangiolen von 22  $\mu$  sowie bis zu 15  $\mu$  Durchmesser.

Die Sporangien können von einfachen fruchthtragenden Stielen getragen sein, aber im allgemeinen sind die Stiele verzweigt zu doldenförmigen Trauben, selten zu endständigen Dolden (Fig. 4). Je größer der Hauptast, um so häufiger zeigen die sekundären Verzweigungen eine weitere Teilung. Das Sporangium oder die Sporangien des Endastes können dicker sein als die Sporangien der seitlichen Schenkel, aber es

kann auch das Umgekehrte vorkommen. Die Länge dieser Sekundärschenkel kann kleiner oder größer als jener des Endschenkels sein; diese Länge beträgt von der Verzweigungsstelle bis zum Ende der Columella 80—300  $\mu$  und mehr. Der Winkel, den sie mit der Hauptachse bilden, ist indes inkonstant, meist 40—60°, aber manchmal auch 90°.

Die Columella (Fig. 5) ist oval-birnförmig oder manchmal auch kreiselförmig, von hellbrauner Farbe, welche sich auf 50—60  $\mu$  über den Schenkel hin erstreckt. Bei den nicht offenen Sporangien erscheint die Columella häufig im oberen Teil regelmäßig kugelförmig und geht gegen die Basis dann unbemerkt in eine konische, dann zylindrische Form des Fußes über (Fig. 3). Kleine Columellen, welche 10 und 9  $\mu$  Breite mit einem Faden von 3  $\mu$  Durchmesser haben, sind nicht selten. Solcher habe ich auch einige von 7  $\mu$  beobachtet. Auf der anderen Seite kann man aber auch ganz dicke von 35 und mehr  $\mu$  Breite finden.

Die Sporen sind ebenfalls von wechselnder Größe, rund oder leicht eiförmig, mit glatter, zarter Membran von leicht brauner Färbung (Fig. 4). Ihre mittleren Größenverhältnisse sind zwischen 4 und 4,5  $\mu$ . Neben diesen typischen Sporen gibt es eine kleine Zahl ovaler oder ganz unregelmäßiger (häufig da, wo die Fruktifikation dichter ist), gleichsam nierenförmiger oder leicht polygonaler.

Die nicht fortpflanzungsfähigen Fädchen haben große Ausdehnungen, im Mittel 14—15  $\mu$  Durchmesser.

Dies sind die charakteristischen Eigenschaften der Kartoffelkulturen sowie der Brotbreikulturen. Auf Agar und Gelatine wächst das Mycel weniger dicht, ist von blasserer Farbe, fast farblos, die Verzweigung weniger reichlich. Es findet sich eine größere Zahl geschlossener Sporangien und in den offenen läßt die Membran oft reichliche Residuen um die Columella wie eine Halskrause oder trichterförmig; manchmal bleibt sie fast vollständig. Die Sporangien sind dicker, die Columellen häufiger eiförmig, weniger braun, die Sporen ein wenig größer, fast farblos.

In sehr alten Agarkulturen sind die Mycelfäden verdünnt, bis zu 2—3  $\mu$  Breite, die Sporangien ziemlich knollig und die Sporen haben eine strohgelbe Farbe angenommen.

Bei niedriger Temperatur gezüchtet (14—15°) hat der Pilz ein mäßig verflochtenes Mycel mit wenig verzweigten Fortpflanzungsfäden. Man findet wenige Sporangien, die viel kleiner sind, von 30—32  $\mu$ , fruchttragende Schenkel von 6—7  $\mu$  und Columellen von 16—18  $\mu$  Breite.

Bei hoher Temperatur (49—51°) gezüchtet, ist das Mycelgeflecht mäßig, mit kurzen und mittelmäßig verzweigten Fruchträger. Die Sporangien sind dick und messen im Mittel 46—50  $\mu$ , die Columellen haben 30—34  $\mu$  Breite, die Sporen sind rund und zeigen einen Durchmesser von 5,5—6  $\mu$ ; es finden sich jedoch auch solche von 7,20  $\mu$  und mehr.

Der Pilz färbt sich gut mit Thionin nach Nicolle und mit der Pick-Jacobson'schen Mischung. Er ist gramnegativ.

### Kulturelle Eigenschaften.

Der von mir isolierte Pilz wächst auf allen gewöhnlichen Nährböden und im allgemeinen kann man sagen, daß die neutralen oder auch die leicht alkalischen oder sauren Nährböden günstig sind, vor allem die zucker- oder stärkehaltigen. Besonders günstig sind Kartoffel- oder Brotbreinährböden. Schlecht wächst indessen der Pilz auf flüssigem oder



koaguliertem Serum oder auf serumhaltigen Nährböden. Letztere eignen sich besser, wenn man Zucker oder Glyzerin zusetzt. Uebrigens ist es möglich, eine Kultur zu erzielen, die zwar wenig üppig, aber hinreichend entwickelt ist, in gewöhnlichem Wasser, dem man 7 Proz. Zucker und 10 Proz. Glyzerin zufügt.

Auf festen Nährböden erhält man viel schneller Kulturen als auf flüssigen. In letzteren sinken die Sporen häufig zu Boden und geben so den Keim zu einem in der Flüssigkeit sich entwickelnden Mycel von langsamem Wachstum; dieses Mycel bildet ganz zarte, leichte, baumwollartige Flocken, gelangt ganz allmählich zur Oberfläche und breitet sich hier zu einer Membran aus, die fruchtet. Auf festen Nährböden bildet sich die Basilmembran sehr rasch und die zur Fruktifikation nötige Zeit ist kürzer. Außerdem beobachtet man nur in den ersten Stadien isolierte Kolonien, da der Pilz in kurzer Zeit das ganze Nährsubstrat mit einem Filz überzieht (Fig. 6).

Bouillon. Nach 24 Stunden beobachtet man feinste, baumwollartige Flöckchen am Boden der Flüssigkeit; nach 3—4 Tagen bildet sich auf der Oberfläche eine zarte, weiße Membran, von der sich die Fortpflanzungsfäden erheben. Diese Membran wird weiterhin dichter, so daß man mit Leichtigkeit das Röhrchen auf den Kopf stellen kann, ohne daß die Flüssigkeit austritt. Die Reaktion des Nährbodens bleibt alkalisch.

Dieselben Charakteristika zeigt die Glyzerinbouillonkultur und die Zuckerbouillonkultur; die Entwicklung ist hier reichlicher und die Membran höher und dichter.

Peptonwasser. Die Kulturen haben dasselbe Aussehen wie in Bouillon, nur die am Boden der Flüssigkeit sich entwickelnden Mycelfäden sind spärlicher und die Membran bildet sich langsamer.

Serum. In flüssigem Rinder- oder Menschenserum ist die vegetative Kraft ziemlich schwach und ebenso auch in Serumbouillon. Nicht konstant ist die Bildung eines Luftmycels. Der Pilz wächst auch in flüssigem Blut, erzeugt aber nur ein spärliches Mycel innerhalb der Flüssigkeit.

In Milch entwickelt sich der Pilz gut und bildet Fortpflanzungsorgane an der Oberfläche des Nährsubstrates. Das Luftmycel wird sehr bald (nach 2 oder 3 Tagen) hellgrau. Milch wird langsam koaguliert, behält indes ihre alkalische Reaktion bei. Nach ca. 15 Tagen setzt sich eine geronnene Masse ab, welche sich am Boden ablagert, während zwischen ihr und der Membran eine hellgelbe, transparente Flüssigkeitsschicht auftritt.

In der Raulinschen Flüssigkeit, die normalerweise sauer reagiert, ist die Entwicklung nicht sehr üppig. Es bilden sich weiße, baumwollartige Flocken, die in der Flüssigkeit schwimmen und dann zu Boden sinken. Es ist uns nie gelungen, ein Luftmycel zu beobachten. Wenn man die Flüssigkeit mit etwas Soda alkalisch macht, erhält man ein reichlicheres Wachstum, und nach einer gewissen Zeit bildet sich an der Oberfläche der Flüssigkeit eine Fortpflanzungsmembran.

Agar. Auf Schrägagarröhrchen erhält man sehr schnell einen weißen Filz, welcher sehr bald das ganze Nährsubstrat überzieht. Derselbe ist von einem matten Mycelgeflecht gebildet, von welchem sich zahlreiche Fruchtfäden erheben. Die vegetative Kraft ist oft derart, daß der Pilz schließlich den ganzen freien Raum zwischen dem Nährsubstrat und der Wand des Glasröhrchens einnimmt. Der Filz bleibt schneeweiß, auch bei einigen Monate alten Kulturen. Dieselben Eigenschaften be-

obachtet man bei Glyzerin- oder Zuckeragarkulturen. Bei Serumagar ist die Entwicklung langsamer und das Mycel weniger reichlich.

In Agarstichkulturen bildet sich ein Mycel mit den oben beschriebenen Eigenschaften an der Oberfläche des Agars und man beobachtet einige schwächliche Wurzeln, die sich vom Einstichkanal bis zu 1 cm unter der Oberfläche abzweigen.

Auf Gelatine ist die Entwicklung des Pilzes spärlich und langsam. Nach einigen Tagen beobachtet man nur das Wachstum eines spärlichen, niedrigen Mycels; manchmal scheint das Nährsubstrat durch dieses hindurch. Häufig ist die Entwicklung isolierter Kolonien. Die Farbe der Kolonien ist und bleibt schneeweiß. Gelatine wird nicht verflüssigt. In Gelatinestichkulturen beobachtet man dieselben Eigenschaften wie auf Agar, das Mycel ist niedriger.

Auf Loefflerserum und einfachem, erstarrten Serum wächst der Pilz kümmerlich, ein ziemlich niedriges und sehr dünnes Mycel erzeugend. Das Serum wird nicht verflüssigt.

Auf Brotbrei ist das vegetative Wachstum dagegen beträchtlich. Das Substrat ist in wenigen Tagen bedeckt von einem hohen, dichten Filz von hellgrauer Farbe.

Auf Kartoffel ist die Entwicklung ebenfalls üppig. Es ist dies zweifellos das günstigste Nährsubstrat für den in Frage stehenden Pilz. Das Mycel wächst schnell um das Kartoffelstück herum, es vollkommen bedeckend. Es erstreckt sich bis an die Verengung des Röhrchens, aber tritt nie ganz in den unteren Teil des Röhrchens über. Manchmal fallen einige Sporen auf den Boden in das Kondenswasser und bilden hier ein spärliches Mycel. Die Farbe des Pilzes ist von den ersten Tagen an bleigrau.

Der Unterschied in der Färbung der Columellen und der Sporen, der sich bei Agar- und Kartoffelkulturen zeigt, und die größere oder geringere Fortpflanzungstätigkeit erklären die Verschiedenheit der Farbe, die der Pilz auf den verschiedenen Kulturböden zeigt.

### Biologische Eigenschaften.

Ausgiebige und beständige Lüftung der Kulturmittel ist zu einer schnellen Entwicklung notwendig, worüber man sich leicht Rechenschaft geben kann, wenn man 2 vollkommen gleiche Kulturen, die eine in einem Röhrchen mit Gummistöpsel, die andere in einem Röhrchen mit Wattepfropf vergleicht. Man kann trotzdem auch Kulturen in einem vorher zum Teil evakuierten Milieu erzielen; so z. B. erhält man in Röhrchen, die durch die Buchnersche Methode ihres Sauerstoffs beraubt wurden, ein spärliches, niedriges, aber deutlich sichtbares Mycel.

Der Pilz bleibt lange am Leben. Die Ueberimpfung einer 9 Monate alten Agarkultur zeigte üppiges Wachstum. Versuche an Tieren zeigten, daß die Kultur zum großen Teil ihre Virulenz bewahrt hatte.

Der Pilz beginnt sich zu entwickeln bei 14—15°; es entwickelt sich bei dieser Temperatur die Kultur sehr langsam und ergibt isolierte Kolonien von spärlichen, dünnen Fädchen, aus denen sich einige Fortpflanzungsfädchen erheben. Bei Laboratoriumstemperatur (ca. 18—20°) ist die Entwicklung weniger langsam und das Mycel etwas kompakter; es überzieht indes nicht die ganze Oberfläche des Nährsubstrates, sondern hier und da bleiben Lücken. Das Optimum ist bei 37—38°.

Bei höherer Temperatur (47—48°) wächst der Pilz zwar noch, aber kümmerlich und in einzelnen Flecken, er entwickelt sich nur noch in vereinzelt Röhrrchen bei 51° und gedeiht gar nicht mehr bei 53°. Kulturen, die 4 Tage lang bei 53° gehalten und dann in den Brutschrank bei 37° gestellt wurden, blieben steril.

Eine Temperatur von 100° tötet in 10 Minuten die Sporen. Dieselben widerstehen jedoch der Austrocknung gut. Unter einem Glas ausgetrocknete und nach 12 Tagen verimpfte Sporen ergaben noch sehr üppige Kulturen.

Die Reaktion des Nährbodens beeinflusst das Wachstum des Pilzes. Es genügt, daß das Nährsubstrat ein wenig zu sauer oder ein wenig zu alkalisch ist, um die Entwicklung zu hindern. In der alkalisierten Raulinschen Flüssigkeit wächst er besser als in der normalen.

Der Pilz produziert keine Säuren in den Nährböden. Er vergärt die gebräuchlichen Zuckerarten nicht. Bei Züchtung auf Agar, dem etwas Lackmus von Kubel-Tiemann und eine der folgenden Zuckerarten: Dextrose, Lävulose, Rohrzucker, Inulin, Milchzucker, Galaktose, Maltose und Mannit nach der Methode von v. Lingelsheim zugesetzt war, erhielt man in allen Röhrrchen ein sehr schnelles, üppiges Wachstum, aber niemals zeigte sich irgendeine Veränderung in der Färbung des Nährsubstrates. Es zeigte keine ausgesprochene Vorliebe für eine bestimmte Zuckerart, wuchs jedoch etwas weniger in den mit Rohrzucker und Mannit versetzten Röhrrchen.

### Pathogenität für Tiere.

Es wurde die allgemeine und die lokale Pathogenität auf die Gewebe des Auges bei den gebräuchlichen Versuchstieren untersucht.

#### A. Allgemeine Pathogenität.

I. Versuch. Am 12. Jan. 1913 wurden einem erwachsenen Kaninchen von 1700 g Gewicht 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung, in der Sporen einer frischen Kartoffelkultur suspendiert waren, in die Randvene eines Ohres eingespritzt. Das Tier starb am 15. Jan., nachdem es inzwischen 300 g an Körpergewicht abgenommen hatte. Bei der Autopsie fanden sich die Nieren sehr hyperämisch, vergrößert, fast das Doppelte ihrer gewöhnlichen Dimensionen aufweisend, und infiltriert mit kleinen, mykotischen Herden von weißlicher Farbe. Diese Knötchen sitzen vor allem in der Randpartie, machen die Nierenoberfläche rau und unregelmäßig, bilden aber keine Verwachsungen mit der sie bedeckenden Serosa. Die Marksubstanz ist hyperämisch, von schwärzlicher Farbe. Die Mesenterialganglien sind hypertrophisch, in ihrem Volumen verdoppelt, unregelmäßig. Im Darmtraktus sitzen die Läsionen hauptsächlich im Dickdarm und Blinddarm. Man findet Knötchen von der Größe eines Stecknadelkopfes, von weißlicher Farbe auf der Schleimhaut sitzend. Die Leber ist voluminös, hyperämisch und zeigt wenige, zu größeren Flecken vereinigte Knötchen, die Milz ist schwarz, hypertrophisch. Lunge und Herz zeigen keine augenfälligen Veränderungen.

Die mikroskopische Untersuchung der Knötchen ergab ein Mycelgeflecht, aus dem man durch Kulturverfahren den eingepfunden Pilz wieder züchten konnte.

II. Versuch. 21. Jan. 1913. Einimpfung von 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung, in der die von einer Agarkultur entnommenen Sporen suspendiert sind, in das Peritoneum eines erwachsenen Kaninchens von 1850 g Körpergewicht. Tier stirbt am 24. Jan. Es finden sich pathologisch-anatomisch dieselben Veränderungen wie bei Versuch I, mit Ausnahme der Leber, wo sich keine Knötchen fanden.

III. Versuch. 20. Dez. 1912. Injektion einer von einer Agarkultur entnommenen, mit physiologischer Kochsalzlösung vermischten Sporenemulsion (2 ccm) in die Randvene des Ohres eines erwachsenen Kaninchens von 2000 g Körpergewicht. Das Tier magert progressiv mehr und mehr ab und stirbt am 23. Jan. 1913 unter kachektischen Erscheinungen. Die Eingeweide zeigen, mit Ausnahme der Mesenterialganglien, welche vergrößert sind, keine Veränderungen. Ein Ganglion auf Kartoffelnährboden überimpft, ergibt Reinkultur des Pilzes.

IV. Versuch. 8. Jan. 1913. Drei Meerschweinchen von 530, 610 und 615 g werden intraperitoneal, jedem 3 ccm einer dichten Sporenemulsion (auf Kartoffel ge-

züchtet) in physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Die beiden ersten verenden nach 3, das letzte nach 4 Tagen. Alle Abdominalorgane sind hyperämisch und zeigen an der Oberfläche eine dünne, graue Pseudomembran. Eine kleine Menge flüssigen Exsudates findet sich in der Peritonealhöhle. Die Nieren sind hyperämisch, stark vergrößert und mit Ausnahme eines Tieres mit kleinen mykotischen Knötchen gesprenkelt. Die Leber wies nur in einem Falle derartige Knötchen auf. Es wird das Blut aus dem Herzen und aus anderen Eingeweiden entnommen und auf Agar verimpft. Die Impfung hatte regelmäßig ein positives Ergebnis.

V. Versuch. Am 18. Dez. 1912 wird einem Meerschweinchen  $\frac{1}{2}$  ccm einer Sporenemulsion in physiologischer Kochsalzlösung unter die Rückenhaut eingepflegt. Es bildet sich an der Einstichstelle ein Knötchen, das nach einigen Tagen zu einer breiigen Masse erweicht. Keine Allgemeinreaktion. Mikroskopisch erscheint die Knötchenmasse gebildet von einer Menge von Leukocyten und Detriten, in deren Mitte man runde Elemente bemerkt, die sich als Sporen erweisen. Kulturen mit 20 und mehr Tage nach der Inokulation entnommenen Material ergaben immer Reinkultur des Pilzes.

Es wird eine ganz gleiche Subkutanimpfung bei einem großen Kaninchen mit 1 ccm Sporenemulsion ausgeführt; das Ergebnis war auch hier ein dickes Knötchen, das die oben beschriebenen Eigenschaften aufwies.

VI. Versuch. 31. Jan. 1913. Einem Kaninchen wird unter die Rückenhaut 1 ccm einer 10 Minuten bei  $115^{\circ}$  abgetöteten Sporenemulsion injiziert. Es bildet sich um die Einstichstelle eine verhärtete Stelle, welche in kurzer Zeit verschwindet, ohne eine Spur zu hinterlassen.

VII. Versuch. Am 16. Dez. 1912 werden einer Taube 3 ccm einer von Kartoffelkultur entnommenen Sporenemulsion in die Axillarvene injiziert. Die Taube bleibt am Leben, ohne Störungen irgendwelcher Art zu zeigen.

VIII. Versuch. Einer weißen Maus wird am 16. Jan. 1913 1 ccm der oben erwähnten Sporenemulsion intraperitoneal injiziert. Das Tier stirbt am 21. Jan. Der pathologisch-anatomische Befund entspricht dem bei den Meerschweinchen erhaltenen. Die bakteriologische Untersuchung des unter aseptischen Kautelen aus dem Herzen entnommenen Blutes ergab ein positives Resultat.

### B. Pathogenität für das Auge.

Außer der allgemeinen Pathogenität, die aus diesen Untersuchungen resultiert, zeigt der Pilz auch schädigende Eigenschaften für die Gewebe des Auges.

IX. Versuch. 5. Dez. 1912. Einimpfung eines Teilchens des von einer Agarkultur entnommenen Pilzes in eine in der Zentralregion gemachte Hornhauttasche. Die Augenlider werden mit 2 Nadeln geschlossen. Nach 24 Stunden bemerkt man eine wurzelförmige Wucherung, die sich unter dem Cornealepithel nach unten (die Tasche wurde von oben nach unten angelegt) wendet. Die Infiltration ist von blendend-weißer Farbe, ohne Reaktion in der Umgebung. An dem Punkte, wo die Tasche angelegt ist, bemerkt man ein opakes, weißes Infiltrat.

8. Dez. Das Cornealepithel hat sich entsprechend der Pilzwucherung zum großen Teil abgehoben. Dieselbe hat ein raues Aussehen angenommen. Sie zeigt jetzt eine plump strahlige Form mit einem mehr opaken, zentralen Punkt. Sie ist nicht abgegrenzt durch eine Demarkationslinie, sondern nur umgeben von einer leicht getrübbten Cornealzone. Von der Peripherie der Cornea spaltet sich ein Gefäßbündel ab, das sich dem Infiltrat zuwendet. Hyperämie der Conjunctiva. Iris und Pupille fast normal.

13. Dez. Das Gefäßbündel, das sich immer weiter verästelt hat, ist am Infiltrat angelangt, dasselbe umgebend und seine Verästelungen in dasselbe entsendend. Letzteres erscheint etwas über die Oberfläche der Cornea erhaben (Fig. 2).

20. Dez. Das Infiltrat erleidet eine Art Zusammenziehung, seine Ausläufer verkleinern sich; ebenso auch das Kaliber der Gefäße.

5. Jan. 1913. Die Gefäße auf der Cornea sind verschwunden. An Stelle des Infiltrates bemerkt man einen sternförmigen Fleck.

X. Versuch. 10. Dez. 1912. Einimpfung eines von einer Agarkultur gewonnenen Mycelteilchens in eine nahe am Zentrum der Cornea angelegte Tasche bei einem Meerschweinchen. Naht der Lider. Nach 24 Stunden zeigt sich ein Infiltrat in Korrespondenz mit der Hornhauttasche, und nach 48 Stunden eine mäßige Wucherung des Pilzes. Nach einigen Tagen beginnen sich oben vom Limbus Gefäßschlingen zu bilden, die sich darauf dem mykotischen Herd zuwenden. Ein Teilchen davon wird genommen und auf Agar verimpft. Man beobachtet hierbei ein rapides Wachstum des Pilzes.

XI. Versuch. 10. Dez. 1912. Einimpfung eines von einer Agarkultur stammenden Mycelstückchens in eine gegen die Peripherie zu gelegene Hornhauttasche in beiden Augen eines Kaninchens. Verschuß der Lider. Die Entwicklung ist langsamer und

nicht sehr üppig. Die Erkrankung entwickelt sich wie oben. Am 6. Tage wurde durch Abkratzen etwas Material von der erkrankten Stelle entnommen, das unter dem Mikroskop in einem Tropfen Glyzerin untersucht wurde. Man fand Sporen und Fädchen inmitten nekrotischer Hornhautepithelien, aber man beobachtete keine Fruktifikationsorgane. Kultur positiv.

**XII. Versuch.** 16. Dez. 1912. Einimpfung eines Mycelstückchens in eine zentrale Hornhauttasche am rechten Auge eines Kaninchens; die Tasche ist weit und reichlich tief. Ueppige Entwicklung des Pilzes, der gut ein Viertel der Hornhaut befällt. Am 5. Tage wird das Auge enukleiert, die Cornea in Zenkerscher Flüssigkeit fixiert und in Paraffin eingeschlossen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung findet sich, entsprechend dem mykotischen Herd, der Mangel des Cornealepithels. Die unmittelbar darunter befindlichen Gewebe in Korrespondenz mit den Pilzausläufern sind in nekrotisches Gewebe umgewandelt, in dessen Mitte man Fädchen erkennen kann. Eine leukocytaire Infiltration erstreckt sich auf ein gewisses Gebiet rings um diese Zone. Die tieferen Gewebe der Hornhaut sind unversehrt.

**XIII. Versuch.** 16. Dez. 1912. Injektion einer Sporenemulsion in eine Hornhauttasche beim Meerschweinchen. Verschuß der Lider. Nach einigen Tagen bemerkt man das Auftreten eines Infiltrates, das eine viel schnellere Entwicklung als in den oben berichteten Fällen zeigt. Ich habe keine Reaktion der Cornea oder der Gefäße beobachtet.

**XIV. Versuch.** Je einem Kaninchen und einem Meerschweinchen wird mit dem Graefeschen Messerchen durch Tätowierung eine dichte Sporenemulsion, von einer Kartoffelkultur stammend, in die Cornea eingepflegt. Nach 48 Stunden beobachtet man mittels abgeschabter Partikelchen Reinkulturen des Pilzes. Beim Meerschweinchen sind diese Flecken in kurzer Zeit verschwunden, beim Kaninchen erhielten sie sich lange Zeit.

**XV. Versuch.** Um ein Wachstum des Pilzes auf der Oberfläche der Cornea zu erzielen, habe ich bei 2 Kaninchen ein Mycelteilchen in eine Hornhauttasche eingeführt, die sich am Ende in einem vorher mit glühendem Eisen kauterisierten Punkt der Hornhautoberfläche öffnete. Der Pilz hat sich mittelstark an den Seiten der Tasche entwickelt, während der Schorf langsam verschwand. Die Untersuchung auf Fruktifikationsorgane hatte negatives Resultat.

**XVI. Versuch.** Impfung von  $\frac{2}{10}$  ccm Sporenemulsion in die Vorderkammer bei 2 Kaninchen und einem Meerschweinchen. In allen Fällen entwickelte sich eine schwere Iridocyclitis mit weißlichen, fibrinösen Exsudatflecken in Korrespondenz mit der Pupille. Nach 2 Monaten ist der Krankheitsprozeß noch nicht erloschen, die Cornea hat sich vaskularisiert und ist ektatisch geworden; in der Vorderkammer findet sich noch Exsudat. Dieses Exsudat erwies sich, in verschiedenen Zeiträumen entnommen, zusammengesetzt aus Fibrin und Leukocyten. Nicht aber fanden sich Mycelfäden, sondern nur Sporen. Die mit diesem Exsudat angelegten Kulturen ergaben immer ein positives Resultat, auch 1 Monat nach der Einimpfung.

Einimpfung einer 10 Minuten bei 115° C abgetöteten Sporenemulsion in die Vorderkammer eines Kaninchens rief eine Iritis mit fibrinösem Exsudat hervor, welche nach ca. 10 Tagen unter Hinterlassung hinterer Synechien wieder verschwand.

**XVII. Versuch.** 12. Jan. 1913. Einimpfung von  $\frac{2}{10}$  ccm einer Sporenemulsion in den Glaskörper von 2 Kaninchen. Es bildete sich ein weißlich-graues Exsudat im Glaskörper, begleitet von einer leichten, pericornealen Injektion und mäßiger Iritis. Die angelegten Kulturen hatten auch hier positives Ergebnis.

### Botanische Definition.

Der von der Cornea unseres Patienten kultivierte Parasit ist also, wie aus den über ihn angestellten Studien hervorgeht, ein Pilz mit mäßig verflochtenem Mycel, auf den gewöhnlichen Nährböden mit schneeweißer Farbe wachsend, mit Ausnahme von Kartoffel, von Milch und Brotbrei, wo er ziemlich schnell bleigraue Farbe annimmt. Er zeigt sehr schnelles Wachstum und überzieht auf festen Nährböden in kurzer Zeit das ganze Nährsubstrat (Fig. 6). Er entwickelt sich gut bei 37° C und bei Luftzutritt, schlecht bei 15°, bei 51° und in sauerstoffarmer Umgebung. Nicht mehr wächst er bei 53° C. Er verändert die Reaktion der Nährböden nicht und bevorzugt die neutralen und leicht alkalischen Nährböden. Er vergärt keinerlei Zuckerarten.

Das Mycel ist matt, aber starr. Die Fruchthyphen sind manchmal einfach, häufiger verzweigt zu doldenförmigen Trauben oder zu terminalen

Dolden mit ungleicher Strahlung, häufig wieder ihrerseits verzweigt (Fig. 4). Die fruchttragenden Schenkel sind angeschwollen unterhalb des Sporangiums. Die Sporangien (Fig. 3) sind kugelförmig mit glatter, transparenter Membran, von verschiedener Größe und mittlerem Durchmesser von 40—42  $\mu$ . Es finden sich außerdem Sporangiolen. Die Columellen sind ei- oder birnförmig, von hellbrauner Farbe, 22—24  $\mu$  breit. Die kugeligen oder kugel-eiförmigen Sporen messen im Mittel 4—4,5  $\mu$  und haben eine zarte, hyaline Membran.

Der Pilz ist pathogen für Kaninchen, wenn man ihn intravenös oder ins Peritoneum einimpft, ebenso für Meerschweinchen und Maus. Für die Taube scheint er indifferent. Die von ihm gesetzten Läsionen betreffen hauptsächlich die Nieren, den Intestinaltraktus, in Uebereinstimmung mit den Befunden Lichtheims und seiner Schüler für die pathogenen Mucorineen; es besteht hierin ein Unterschied gegenüber dem Aspergillus, der vor allem die Leber befällt. Unter die Haut eingeimpft, setzt er nur lokale Veränderungen ohne irgendwelche Allgemeinreaktion.

Er ist pathogen für die Gewebe des Auges; durch Einimpfung zwischen die Lamellen der Cornea des Kaninchens oder des Meerschweinchens ruft er eine unregelmäßige, wenig prominente Infiltration hervor, welche umgeben wird von vom Limbus ausgehenden Gefäßschlingen (Fig. 2) und unter Zurücklassung eines Hornhautfleckes heilt.

Von den mehr in die Augen springenden morphologischen Merkmalen scheint bemerkenswert, daß der von mir isolierte Pilz zweifellos ein Phycomycet aus der Gattung Mucor ist. Um die Art genau zu bestimmen, eine Frage, die für ähnliche Fälle wichtig erscheint, habe ich das maßgebende Urteil des Prof. Saccardo, des berühmten Pilzforschers von Padua, dessen Kompetenz in dieser speziellen Materie bekannt ist, eingeholt. Durch Untersuchung der ihm eingesandten Präparate und Kulturen, sowie aus den biopathogenen Eigenschaften hat er sich davon überzeugt, daß es sich um eine neue, noch von keiner Seite beschriebene Art handelt. Nach der Kleinheit der Sporen und der Sporangien und nach der Anordnung der Verzweigungen gehört er zum *Mucor racemosus* und ist vor allem sehr verwandt dem *Mucor Regnieri* Luc. et Cost.<sup>1)</sup>; aber in Anbetracht seiner biologischen Eigenschaften und seiner eigentümlichen Pathogenität verdient er den Namen *Mucor cornealis* n. sp., der seine Matrix andeutet<sup>2)</sup>. Natürlich bleibt

1) Cfr. Guéguen, Les Champignons parasites de l'homme et des animaux. Paris 1904. T. 2. p. 29 und Saccardo, Sylloge fungorum. Vol. 21. 1912. p. 817.

2) Anbei die von Prof. Saccardo aufgestellte lateinische Diagnose des neuen Pilzes:

*Mucor cornealis* V. Cav. et Sacc. n. spec.

*Mycelio laxo intertexto, candido, mox (in lacte, pane, tuberoque solani exulto) cinereo-plumbeo, temperature + 37 c. rapide et copiose se evolvente, aegre vero temp. + 15 c. vel supra + 51 c.; hyphis sterilibus effusis, validis, dendritice ramosis, usque ad 14—15  $\mu$  cr., continuis, hyalinis, apicem versus corymboso — v. racemoso — ramosis; ramulis sporangiophoris nunc alternis, nunc oppositis, simplicibus v. dichotome partitis, longitudine varia, 80—300  $\times$  7—8  $\mu$  plerumque sub angulo 45—46° patentibus, sursum sensim leviter incrassatis, sed sub sporangio non coarctatis, achromis, apice fuscellis; sporangii globosis v. subglobosis, tunica diaphana levi praeditis, 40—44  $\mu$  diam. (varius usque ad 50—55  $\mu$  diam. et subinde tantum 15—22  $\mu$ ); columella distincta, obovato-piriformi, plus minus dilute fusca, 22—24  $\mu$  lata; sporis tunica tenuissima hyalina, levigata praeditis, senio dilute flavicantibus, typice globosis 4—4,5  $\mu$  diam., varius globoso-ovoideis; zygosporis ignotis.*

Hab. in cornea oculari hominis, cui pathogenus et ceratomykosis formam generans, Senis Etruriae, vere 1912.

immer diskutabel, ob die *Mucor*-Art wirklich spezifischer Natur ist, oder ob sie eine der gewöhnlichen saprogenen Arten ist, die sich erst in der neuen Umgebung differenziert haben und zu Parasiten geworden sind. Dieser Zweifel wiederholt sich jedoch immer wieder bei fast allen Mykosen.

### Schlußbetrachtungen.

Die klinische und mikrobiologische Analyse unserer Beobachtung erlaubt uns also, mit Bestimmtheit festzustellen, daß eine Mykosis der Cornea existiert, hervorgerufen von einem Pilz, der zum Genus *Mucor* und zu einer Art gehört, die wenigstens bezüglich ihrer biopathogenen Eigenschaften noch nicht bekannt zu sein scheint, und für welche wir den Namen *Mucor cornealis* vorgeschlagen haben.

Es ist dies der erste mit Bestimmtheit festgestellte Fall von Keratomykosis, der hervorgerufen ist durch eine *Mucor*-Art. *Mucor*-Arten sind in anderen Organen und Geweben gefunden worden, und es ist seit langem bekannt, daß einige Arten eine ausgesprochene Pathogenität für Menschen und Tiere haben. Ohne die früheren Beobachtungen von Sluyter<sup>1)</sup> und Küchenmeister<sup>2)</sup>, die vielleicht auf einer Verwechslung des *Mucor mucedo* mit einem *Aspergillus* beruhen, unbedingt anzuerkennen, kann man immerhin sagen, daß wir seit 1876 2 interessante Beobachtungen von Mykosis *mucorina* besitzen. Dieselben verdanken wir Fürbringer<sup>3)</sup>, der in den Lungen zweier Individuen eine *Mucor*-Art fand, die er *Mucor mucedo* benannte, die aber Lindt<sup>4)</sup> für den *Mucor corymbifer* Lichth. hielt. Im Jahre 1885 machte Paltauf<sup>5)</sup> eine bestimmtere Beobachtung von allgemeiner Mykosis beim Menschen, wo der Pilz, den er mit dem *Mucor corymbifer* identifizierte, die einzige Ursache der zum Tode führenden Krankheit gewesen zu sein schien. Die Beobachtungen dieser Autoren geben uns, obwohl sie sich der Kritik und manchen Einwendungen nicht entziehen können, immerhin die ersten eine Vermutung, die zweite einen wichtigen Beweis zugunsten der Pathogenität der *Mucor*-Arten. Neben diesen und anderen nicht zu übergehenden Beobachtungen von Bollinger, Schütz, Reinhardt<sup>6)</sup> müssen wir die eingehend studierten Fälle von Herla<sup>7)</sup> und von Lucet und Costantin<sup>8)</sup> erwähnen, die sich auf Mykosis der Lunge beziehen. In diesem letzten, in seinen Einzelheiten interessanten Falle, handelte es sich um eine Patientin, bei der man Verdacht auf Lungentuberkulose hatte, bei der aber die wiederholte Untersuchung des Auswurfes eine Pneumomykosenaffektion erwies. Die Kranke genas nach 6 Monaten, die Besserung ging gleichen Schrittes mit einem allmählichen Verschwinden des Parasiten aus dem Auswurf, und zwar handelte es sich um den *Rhizomucor parasiticus*.

Wiederholt wurden *Mucor*-Arten als Ursache von Ohraffektionen beschrieben; wir erwähnen nur die Fälle von Otomykosis, die von Siebenmann<sup>9)</sup>, Hückel<sup>10)</sup> und von Graham<sup>11)</sup> berichtet wurden, und die von dem *Mucor corymbifer* ver-

1) Sluyter, De vegetabilibus organismi animali parasitis. Berolini 1847.

2) Küchenmeister, Die in und an dem Körper des lebenden Menschen vorkommenden Parasiten. Leipzig 1859.

3) Fürbringer, Beobachtungen über Lungenmykose bei Menschen. (Virch. Arch. Bd. 66. p. 330.)

4) Lindt, Mitteilungen über einige pathogene Schimmelpilze. (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 21. p. 269.)

5) Paltauf, Mykosis *mucorina*. (Virch. Arch. Bd. 102. 1885. p. 543.)

6) Bollinger, Ueber Pilzkrankheiten höherer und niederer Tiere. (Aerzt. Intelligenzbl. Bd. 27. 1880.); Schütz, Ueber das Eindringen von Pilzsporen in die Atmungswege. (Mitteil. a. d. K. Gesundheits-Amt. Bd. 2. p. 208); Reinhardt, Krankheiten des Hausgeflügels. 1882.

7) Herla, Note sur un cas de pneumomykose chez l'homme. (Bull. de l'Acad. roy. de méd. de Belgique. T. 9. 1895. p. 1021.)

8) Lucet et Costantin, Contributions à l'étude des Mucorinées pathogènes. (Arch. de Parasitol. T. 4. 1901. p. 362.)

9) Siebenmann, Die Schimmelmikose des menschlichen Ohres. Wiesbaden 1889.

10) Hückel, Zur Kenntnis der Biologie des *Mucor corymbifer*. (Beitr. z. pathol. Anat. u. Physiol. 1884. p. 115.)

11) Graham, *Mucor corymbifer* in the external auditory meatus. (Lancet. Vol. II. 1890. p. 1379.)

ursacht wurden. Jakowski<sup>1)</sup> hat in einem Falle von Otomykosis den *Mucor ramosus* Lindt angetroffen. Auch der *Mucor septatus* Bezold und andere wurden als pathogen für das Ohr beschrieben.

Der vorliegende Fall beweist, daß die Mucorineen auch für die Cornea pathogen sein können. Es wird durch neue klinische Beobachtungen die Fixierung der Charakteristika der Keratomykosis mucorina vollendet werden, sowie diejenigen Eigenschaften festgestellt, welche sie eventuell von der Keratomykosis aspergillina und verticillina unterscheiden. In Anbetracht der in unserem Falle beobachteten Veränderungen würde man für die Keratomykosis mucorina folgende charakteristische Eigenschaften aufstellen: Eine lokalisierte Läsion, die in Form einer opaken Erhebung auftritt, von weißer Farbe, deutlich abgegrenzt von der umstehenden Cornea, plump, rundlich, von ziemlich rauher Oberfläche; ein vom Limbus kommendes Gefäßbüschel verästelt sich um den mykotischen Herd. Der Rest der Cornea erscheint transparent, die Conjunctiva normal. Keine Reizung der Iris. Mäßige Lichtscheu und geringes Tränen.

Es handelt sich also um Veränderungen, die denen sehr ähnlich sind, die man bei den gutartigen Formen von Keratomykosis aspergillina beobachtet. Von letzterer unterscheidet sich die vom *Mucor* hervorgerufene Keratomykosis durch das mehr weiße und weniger trockene Aussehen des Herdes sowie durch das Fehlen einer wahren Demarkationsfurche und eines Infiltratringes. Bezüglich des letzteren ist jedoch zu bemerken, daß diese Kennzeichen bei der Keratitis aspergillina alles andere als konstant sind; der Infiltratring z. B. tritt nicht immer auf, wie aus den Untersuchungen von Albertotti<sup>2)</sup> hervorgeht. Bezüglich der Demarkationsfurche ist zu bemerken, daß diese für gewöhnlich zwar deutlich sichtbar ist, aber, wie in den Fällen von Albertotti und Martin<sup>3)</sup>, auch fehlen kann.

In allen Fällen wird die mikroskopische wie kulturelle Untersuchung nötig sein, um eine genaue Diagnose zu stellen. Die mikroskopische Untersuchung wird das Vorhandensein von Pilzfäden ergeben, woraus die Diagnose Mykosis der Cornea wird gestellt werden können, aber allein das Kulturverfahren wird bestimmt ergeben, mit welcher Mykosisart man es zu tun hat.

Wie beim größten Teil der Fälle von Keratitis aspergillina, konnte auch ich in der Cornea des Pat. nicht die charakteristischen Fruktifikationsorgane der Mucorineen nachweisen. Es ist indessen zu bemerken, daß nach den Untersuchungen von Zade<sup>4)</sup>, der die sporenbildenden Organe des *Aspergillus* beim Menschen mittels Abschabens des Geschwürs und Einschließens in Glyzerin zu finden suchte, nur im zentralen Teile des mykotischen Herdes und genau genommen nur an seiner Oberfläche sich die genannten Organe fanden, und daß zur Untersuchung nach diesen Gebilden sich ausschließlich frische und ungefärbte Präparate eignen. Im vorliegenden Falle habe ich dagegen gefärbte Ausstrichpräparate untersucht. Bei der experimentellen Ueberimpfung auf die

1) Jakowski, Otomykosis mucorina. (Gazeta lekarska. 1884. No. 34.)

2) Albertotti, Contributo allo studio di una forma benigna di Cheratomicosi aspergillina. (Mem. d. R. Accad. di lett., scienz. e arti, Modena. Vol. 7. 1906.)

3) Martin, Ein neuer Fall von Keratomykosis aspergillina. (Arch. f. Augenheilk. Bd. 50. 1904. p. 177.)

4) Zade, Beitrag zur Kenntnis der Keratomykosis aspergillina. (Graef. Arch. f. Ophth. Bd. 65. 1901. p. 417.)



Kaninchencornea konnten jedoch auch bei Anwendung der Zadeschen Technik Sporangien nicht nachgewiesen werden. Ein eingehenderes Studium dieser Verhältnisse wird die Zugehörigkeit des Pilzes in dieser Beziehung noch genauer feststellen.

Eine eigentümliche Einzelbeobachtung, die ich bei unserem Pat. machte, und die in keinem der sonst veröffentlichten Fälle von Keratomykosis beschrieben ist, ist das Vorhandensein von 2 gut unterscheidbaren, unter sich durch eine Partie gesunder Cornea getrennten Knötchen. Auch in dem Falle von Feruglio<sup>1)</sup> wurden 2 Infiltrate beobachtet; dieselben waren aber miteinander verbunden und bildeten sozusagen einen einzigen Herd. Das Vorhandensein zweier verschiedener Infiltrate erklärt sich durch eine doppelte Infektion infolge einer doppelten, gleichzeitigen Verletzung des Cornealepithels.

Der Verlauf der Krankheit war in unserem Falle gutartig, wie auch im allgemeinen der Verlauf der Keratitis aspergillina gutartig ist. Trotzdem sind verschiedene Ausnahmen anzuführen, insofern in einigen Fällen (die von Leber<sup>2)</sup>, Mauthner<sup>3)</sup>, Basso<sup>4)</sup> usw.) sich ein ausgedehntes, adhärentes Leukom der Cornea bildete, und bei der Beobachtung von Markow<sup>5)</sup> die Erkrankung mit Phthisis bulbi endigte. Verschiedene Gründe wurden angeführt, um diese Unterschiede im klinischen Verlaufe der Keratomykosis aspergillina zu erklären, und es wurden auch diesbezügliche experimentelle Untersuchungen gemacht. Es scheint, daß außer der individuellen Prädisposition und der Art und Menge des eingepflichten Materials nach den Untersuchungen Osterroths<sup>6)</sup> und Isakowitsz<sup>7)</sup>, coeteris paribus, die zentrale oder periphere Lokalisation des Herdes von Wichtigkeit ist. In unserem Falle war der Sitz ein peripherer. Bei der Einimpfung des *Mucor* in die Kaninchencornea hat sich mehr als einmal gezeigt, daß, je näher die Einimpfung dem Limbus gemacht wurde, desto weniger stark die Pilzwucherung war und desto leichter und rascher sie vaskularisiert wurde. Dies steht übrigens im Einklang mit dem allgemeinen Grundsatz, daß die peripheren Hornhautprozesse gewöhnlich einen günstigeren Ablauf haben als die zentralen, infolge ihrer günstigeren Ernährungsbedingungen.

Auch das Alter der Sporen kann nach Ribbert<sup>8)</sup> von Einfluß sein auf die Entwicklung des mykotischen Prozesses, denn er hat gefunden, daß die jugendlichen Sporen des *Aspergillus flavescens* eine größere Virulenz besitzen als die älteren. Nach Rollet und Aurand<sup>9)</sup> ist für den *Aspergillus fumigatus* das Gegenteil der Fall. Ich habe mit dem von mir isolierten *Mucor* keine systematischen Untersuchungen gemacht, aber ich habe bei den einige Monate alten Sporen eine Verringerung in der Virulenz für die Kaninchencornea beobachtet.

1) Feruglio, *Sopra una forma benigna di cheratomicosi aspergillina*. (Ann. d'Ottalm. Vol. 39. 1910. p. 381.)

2) Leber, loc. cit.

3) Mauthner, Ref. in Wien. klin. Wochenschr. 1894, p. 305.

4) Basso, *La cheratomicosi per Aspergillus fumigatus*. (Ann. d'Ottalm. Vol. 29. 1900. p. 33.)

5) Markow, Schimmelpilzentzündung der Hornhaut. (Westnik Ophth. Bd. 17. 1900. p. 127.)

6) Osterroth, Beitrag zur Kasuistik der Keratomykosis aspergillina. (Berlin. klin. Wochenschr. 1905. No. 7.)

7) Isakowitsz, Mitteilung einiger seltenen Hornhauterkrankungen. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 47. p. 100.)

8) Ribbert, zit. nach Leber: Die Entstehung der Entzündung. Leipzig 1891. p. 9.

9) Rollet u. Aurand, loc. cit.





Fig. 1.



Fig. 2.

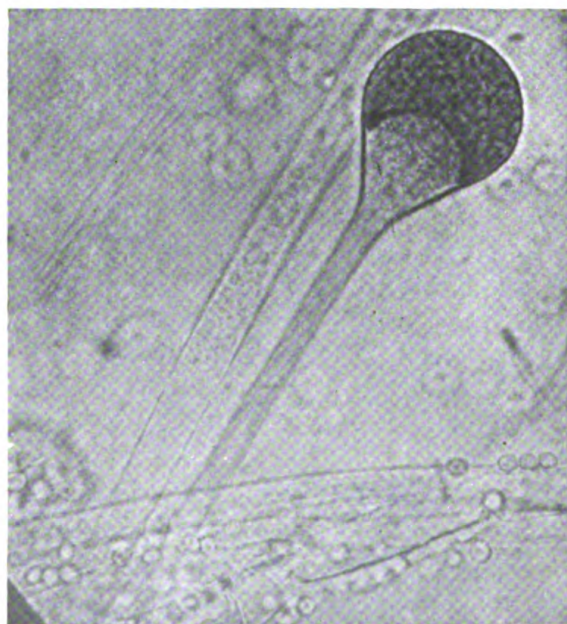


Fig. 3.





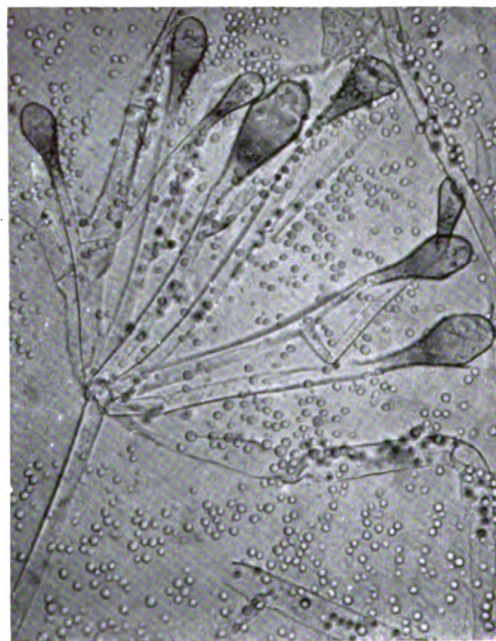


Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Auch die mehr oder minder oberflächliche Lage der Cornealäsion scheint nach Leber<sup>1)</sup> von Wichtigkeit zu sein. Nach den Untersuchungen dieses Autors entwickeln sich, wenn der Impfkanal sich wenig in die Tiefe erstreckt, die Sporen des *Aspergillus* entweder gar nicht, oder sie setzen bei weitem leichtere Läsionen, als wenn der Impfkanal sich in einer bestimmten Tiefe befindet. Ich habe schon erwähnt, daß auf der Cornea unseres Patienten der mykotische Herd einen sehr oberflächlichen Sitz hatte. Bei den Tierversuchen habe ich feststellen können, daß die durch Tätowierung der Cornea verimpften Sporen des *Mucor* unbedeutende Läsionen setzten und daß bei der intralamellaren Einimpfung der Pilz sich, wenn die Tasche oberflächlich war, weniger stark entwickelte, als wenn sie tief war. Daraus würde hervorgehen, daß, wie beim *Aspergillus*, auch der *Mucor* in den tiefen Geweben der Cornea bessere Entwicklungsbedingungen findet als in den oberflächlichen.

Diese Fragen jedoch, die sich mit der Biologie des von mir isolierten *Mucor* verknüpfen, werden gleichzeitig mit dem Studium verwandter Arten in einer späteren Arbeit näher besprochen werden.

Zum Schlusse erlaube ich mir, meinem Lehrer, Herrn Prof. A. Bietti, für die Anregung zur Veröffentlichung des vorliegenden Falles und für seine Ratschläge bei der Ausführung der Untersuchungen und nicht zum wenigsten, Herrn Prof. P. Saccardo für seine Anleitung und Unterstützung beim botanischen Studium des neuen Pilzes verbindlichst zu danken.

1) Leber, loc. cit.

#### Erklärung der Abbildungen.

##### Tafel I.

Fig. 1. Die an der Cornea des Pat. angetroffene Läsion.

Fig. 2. Experimentelle Keratomykosis im vorgertückten Stadium. Man sieht auf der Cornea des Kaninchens eine unregelmäßige Infiltration, umgeben von vom Limbus ausgehenden Gefäßschlingen.

Fig. 3. *Mucor cornealis*. Fruchthyphe mit einem nicht geöffneten, Sporen enthaltenden Sporangium, aus einer Kartoffelkultur (Zeiss  $\frac{1}{12}$  Imm. homog., Ok. 4 Komp.).

##### Tafel II.

Fig. 4. Terminale Dolde an der Spitze einer Fruchthyphe; die Strahlen der Dolde tragen nur die Columellen, da die Sporangienmembran gesprengt ist und die Sporen in Freiheit gesetzt worden sind. Kartoffelkultur (Zeiss DD, Ok. 4 Komp.)

Fig. 5. Isolierte Columellen inmitten eines Mycelgeflechtes, aus einer Raulin-schen Flüssigkeitskultur (Zeiss DD, Ok. 4 Komp.).

Fig. 6. Eine 48 Stunden alte Agarkultur.

*Nachdruck verboten.*

## Abortus bei Stuten durch einen Paratyphus-B-Bacillus.

[Aus dem Institut für parasitäre und Infektionskrankheiten in Utrecht  
(Vorstand Prof. Dr. D. A. de Jong in Leiden).]

Von **T. van Heelsbergen**, Konservator am Institut.

Mit 2 Textfiguren.

### I. Einleitung.

Im Jahre 1911 kamen auf der Insel Tholen viele Fälle von seuchenhaftem Abortus bei Stuten vor, welche erheblichen Schaden verursachten. Das Verfohlen trat öfters dermaßen auf, daß bei vielen Eigentümern alle trächtigen Stuten abortierten. Der infektiöse Charakter war deutlich, die spezifische Ursache jedoch unbekannt. Am 12. Oktober 1911 wurde eine abortierte Frucht von etwa 6 Monaten samt ihren Hüllen dem Institut für parasitäre und Infektionskrankheiten in Utrecht zugeschickt und von Prof. Dr. D. A. de Jong verarbeitet. Bei der Obduktion, welche ungefähr 24 Stunden nach dem Abortus stattfand, wurde folgendes beobachtet: Das Chorion war gleichmäßig braunrot gefärbt, die Allantois sehr gefäßreich und stark injiziert, während am Amnion keine krankhaften Erscheinungen zu beobachten waren. Exsudat, wie dieses in Fällen von seuchenhaftem Abortus beim Rinde reichlich zwischen Chorion und Uterus gefunden wird und auch am ausgestoßenen Chorion zu sehen ist, war hier nicht vorhanden, und ist auch in späteren Fällen niemals gefunden worden. Die Haut war unverändert, nicht behaart, jedoch war das subkutane Bindegewebe serös infiltriert. Der Nabelstrang war verdickt durch seröse Infiltration in der Warthonschen Sulze. Bei der mikroskopischen Untersuchung wurde in fast allen Organen und Hüllen scheinbar dieselbe Bakterie gefunden. Es war ein Stäbchen, welches morphologisch eine große Ähnlichkeit mit dem Coli-Bacillus zeigte und in dem Gewebe in eigentümlicher Weise in Gruppen von mehreren Exemplaren beisammen gelagert war.

Es gelang, aus der Frucht und ihren Hüllen einen ovoiden Bacillus mit ziemlich charakteristischen Kultureigenschaften zu züchten (Stamm I). Morphologisch sowie kulturell zeigte der Mikrob eine große Ähnlichkeit mit dem Schweinepestbacillus, er paßte genau in die Gruppe, die früher von Lignières mit dem Namen „Salmonella“ bezeichnet worden war und heute gewöhnlich Schweinepestgruppe oder Paratyphus-B-Enteritisgruppe genannt wird. Es sei hier noch erwähnt, daß der gefundene Bacillus wohl als identisch zu betrachten ist mit demjenigen, welcher von Theobald Smith 1893 in Fällen von seuchenhaftem Abortus bei Stuten beschrieben worden ist (1).

Weil der gefundene Bacillus in reiner Kultur in allen Organen, Geweben und Hüllen zu finden war, ließ sich folgern, daß er die mutmaßliche Ursache des Verwerfens sei, umso mehr, als aus einem zweiten, bald nachher untersuchten abortierten Fohlen wieder dieselbe Bakterie gezüchtet wurde.

Dies näher zu untersuchen, war Ziel weiterer angestellter Untersuchungen. Ueber diese Untersuchungen wurde von Prof. de Jong teilweise und vorläufig berichtet in einer kurzen Mitteilung, welche im Jahre 1912 veröffentlicht wurde (2). Darin wurde gesagt, daß nähere

Mitteilungen von mir, dem das Material für weitere Bearbeitung überlassen wurde, später erscheinen würden. Sie finden sich in vorliegender Arbeit.

## II. Geschichtliches und Literaturübersicht.

Schon im frühesten Altertum werden, wie wir in der Genesis XXXI lesen können, Abortusfälle bei Tieren erwähnt. Genaue Literaturangaben über den Gegenstand fehlen jedoch bis zum Ende des 18. Jahrhunderts, wo Flandrin (3) mitteilte, daß 1784 in dem Kreis von Châlon (Frankreich) fast alle trächtigen Pferde und Rinder ihre Frucht zu früh gebären. Später werden in der Literatur dann und wann Fälle von Abortus bei Tieren beschrieben, woraus hervorgeht, daß die Krankheit fast immer ziemlich weit verbreitet und in allen Kulturstaaten Europas bekannt war. Es hat keinen Zweck, diese verschiedenen Mitteilungen hier weiter zu analysieren. Diejenigen, welche sich für dieselben interessieren, verweise ich auf die Dissertation von Joseph-Guillerey (4), welche sie kurz referiert. Die Ursache des Abortus bei Tieren war früher noch weniger bekannt als heute und die verschiedensten Theorien wurden verfochten. Aber Flandrin nahm schon 1804 eine allgemeine Ursache für das Verwerfen an und im Anfang des 19. Jahrhunderts wurde die Kontagiosität immer mehr vermutet. Flandrin sagt, daß die Bauern so fest an die ansteckende Natur der Krankheit glaubten, daß sie es für notwendig erachteten, Frucht und Hüllen schleunigst einzuwickeln und durch das Fenster aus dem Stall zu entfernen, damit andere Tiere nicht infiziert würden. Auch in England glaubte der „Complete Farmer“ 1807 (5), daß der Abortus ansteckend sei und die Maßnahmen, welche zu jener Zeit genommen wurden, wie Vernichtung der Frucht und ihrer Hüllen, Reinigung der Stallräume, sprechen für die gute Einsicht in die Natur dieser Krankheit.

Im weiteren Verlauf des 19. Jahrhunderts traten jedoch andere Theorien, welche die Kontagiosität leugneten, in den Vordergrund und es gab Untersucher, wie Demoussy, 1811 (6), Hurtrel d'Aboral, 1826 (7), Youat, 1834 (8), Hering, 1858 (9), Bouley, 1875 (10) und Stockfleth (11), welche die ansteckende Natur völlig in Abrede stellten und nasse und kalte Jahreszeiten, Nachfröste, kaltes Trinkwasser, bestimmte Futterarten usw. als die Ursachen betrachteten. Es ist, wie Bang (20) sagt, mit dieser Krankheit ungefähr wie mit der Tuberkulose gegangen. Der gemeine Mann hatte auf Grund seiner Erfahrung die ansteckende Natur der Krankheit schon sehr früh erkannt, die Vertreter der Wissenschaft aber traten dieser Auffassung nicht immer bei und erst die bakteriologische Ära hat wieder die Kontagiosität des Verwerfens nach und nach zur allgemeinen Anerkennung gebracht.

Zundel, 1871 (12), St. Cyr, 1875 (13), Franck, Roloff u. a. erklärten aber das Leiden als kontagiös. Aber noch im Jahre 1878 warnte Stockfleth (11) vor der unbedingten Annahme der Ansteckungsfähigkeit. Er sagt: „Eine solche Theorie ist sicherlich ganz bequem, indem sie uns über andere, wesentlichere Ursachen hinwegsehen läßt, deren Nachweis und Abhilfe sehr schwer sein kann; sie kann hierdurch aber sehr schädlich werden.“

Die scheinbare Ansteckung meint er auf eine Verunreinigung der Stallluft zurückführen zu können. Im selben Jahre gelang es aber Lehnert (14), Abortus bei Rindern zu erregen, indem er diesen Tieren Fruchthüllen oder Exsudat, das von Kühen stammte, welche abortiert hatten, in die Vagina einführte. Diese Versuche sind 1880 von Bräuer (15) wiederholt worden, und zwar gleichfalls mit positivem Resultat.

Die Kontagiosität der Krankheit war also beim Rind ziemlich wohl bewiesen. Einer von den Untersuchern, welcher die Frage beim Rind einer genaueren Untersuchung unterworfen hat, ist Nocard (16), der im Dezember 1885 von dem Minister für Landwirtschaft den Auftrag erhielt, das unter den vorzüglichen Viehstämmen von Nièvre jahrelang herrschende epizootische Verwerfen zu studieren. Auch ihm gelang es während dieser Untersuchung, die ansteckende Natur auf Grund schöner klinischer Beobachtungen darzulegen.

Im April 1886 wurde von „The Highland and Agricultural Society“ in Edinburgh eine aus Woodhead, Aitkes, Mc. Fadyean und Campbell zusammengesetzte Kommission mit der Untersuchung der Abortfrage beauftragt (17). „The scope of the experimental work was limited to eight animals — four cows and four ewes. From the committee's report we gather that two cows, believed to be pregnant, placed with others which had previously aborted, did not abort. In another experiment a pregnant cow from a healthy herd was placed in a shed in which several cows had aborted; into her vagina was placed a plug of cotton wool, first inserted into the vagina of an aborted cow, with the result that in ten weeks she aborted. A similar result followed the injection of vaginal mucus from an aborted cow into a healthy one. Two pregnant ewes were inoculated in a similar fashion and with like results (abortion 38 and 39 days after the



injection). Into the genital passages of two pregnant ewes plugs of cotton wool as above were inserted; one of these aborted in thirty days, the other brought forth a living lamb at full time" (zit. nach Penberthy, in Journ. of comparat. Pathol. Vol. 8. p. 102). Nach allen diesen Versuchen war es schwer, noch länger die Ansteckungsfähigkeit des Rinderabortus zu leugnen. Anders war es jedoch mit dem Abortus der Stute. Damals war es noch nicht gelungen, auch für diese Erkrankung die Kontagiosität darzutun.

Gsell (18) gelang es 1880, Abortus bei einer trächtigen Stute herbeizuführen, indem er bei diesem Tier Scheidenausfluß von einer Stute, die abortiert hatte, in die Vagina einbrachte. Das Tier abortierte 9 Tage nachher.

Gsell hielt mit diesem Versuch die Kontagiosität des Stutenabortus für bewiesen.

Nocard (18) war aber nicht dieser Meinung. Er sagte über diesen Versuch wörtlich: „Cette expérience est sans doute très intéressante, on peut cependant y faire des sérieuses objections. Elle a été pratiquée dans le pays même et à l'époque où regnant la maladie, sur une bête placée dans les mêmes conditions générales que celles qui avortaient dans le voisinage; peut-on répondre qu'elle n'eût pas avorté sans l'injection. L'avortement épizootique du jument reste douteux, après comme avant le Mémoire de M. Gsell.“

Obwohl das seuchenhafte Verwerfen bei der Stute in den nachfolgenden Jahren öfters Gegenstand genauer Untersuchungen gewesen ist, ist es doch bis heute nicht gelungen, einen für alle Fälle geltenden spezifischen Mikroorganismus zu finden, obwohl solche Mikroben wohl als Ursache bestimmter Enzootieen erkannt werden. So kennen wir als spezifischen Abortuserreger der Stute den Streptococcus von Ostertag (19). Damit ist aber keineswegs gesagt, daß man diese Bakterie als allgemeine Ursache betrachten darf.

Im Jahre 1900 gelang es Ostertag, in Fällen von seuchenhaftem Abortus bei der Stute einen kurzen, gramnegativen Streptococcus als die mikrobielle Ursache der Krankheit nachzuweisen.

Die Fälle wurden beobachtet in den Gestüten zu Graditz, Hoppegarten, Beberbeck und Neustadt a. d. Dosse, von woher er die Früchte und deren Hüllen zur Untersuchung bekam.

Das Resultat der bakteriologischen Untersuchung war insofern überraschend, als gegen alle Erwartung der kurz vorher von Bang (20) beim seuchenhaften Verkälben der Rinder gefundene Abortusbacillus (1897) nicht nachgewiesen wurde.

Dagegen ließen sich in dem subchorialen Oedem, im Herzblut, in der Brusthöhlenflüssigkeit und im Mageninhalt solcher Föten, welche tot geboren waren, Kugelbakterien feststellen, welche zu zweien in kurzen Ketten angeordnet waren und die Gramsche Färbung nicht annahmen. Diese kurzen Streptokokken fanden sich an den genannten Stellen in 7 Fällen in Reinkultur, in den übrigen vermisch mit anderen Bakterien, welche Zersetzungen tierischer Teile zu begleiten pflegen.

Mit diesem Mikroorganismus wurden im ganzen 4 trächtige Stuten und 10 trächtige Rinder infiziert. Das Resultat bei den Stuten war, daß 2 von ihnen abortierten, während die 2 anderen ein schwaches Fohlen gebaren. Bei allen diesen 4 Versuchen gelang es, den eingebrachten Streptococcus in den Fruchthüllen nachzuweisen. Hierbei ist noch zu erwähnen, daß dem hygienischen Institute in Berlin bereits im November 1899 von dem Gestütsroßarzt Dr. Bernhardt in Trakehnen ein Fohlenkadaver eingesandt worden ist, welches während des damals im Hauptgestüte zu Trakehnen herrschenden Verfohlens verworfen war. Dieses Fohlen ist von dem derzeitigen Repetitor des hygienischen Instituts, Roßarzt Bongert, bakteriologisch verarbeitet worden. Auch in diesem Falle war der Nachweis der Bangschen Bacillen nicht gelungen. Dagegen konnte Bongert aus dem Gehirn des Fohlenkadavers Streptokokken isolieren, welche mit den aus den Graditzer und Hoppegartener Fohlen gezüchteten in allen Merkmalen übereinstimmten. Die bei Rindern angestellten Versuche sind völlig negativ geblieben. Es gelang Ostertag weder durch Uebertragung von Eihautstückchen und Fruchtwasser von abortierten Fohlen, noch durch die Verimpfung der Abortuskokken, Verkälben der Kühe herbeizuführen. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß es Ostertag gelungen ist, eine spezifische Ursache in bestimmten Fällen von seuchenhaftem Abortus bei der Stute zu finden. Daß dieser Ostertagsche Streptococcus immer die Ursache ist, ist keinesfalls sicher, denn weitere Mitteilungen in der Literatur sind nach denen Ostertags nicht erschienen.

Zu den Mikroorganismen, welchen man ebenfalls eine abortive Wirkung bei der Stute zuschreibt, gehört auch der Bangsche Bacillus. Diese Meinung stützt sich nämlich auf folgenden, von Bang im Jahre 1897 angestellten Versuch:

„Einer 8-jährigen, trächtigen Stute wurden am 1. April 1897 um 12<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Uhr in die Vena jugularis etwa 25 ccm einer unter Sauerstoff gezüchteten Bouillon-Serumkultur

injiziert. Die Temperatur war 1 Stunde später 37,7° C, nach 6 Stunden war sie aber auf 40° gestiegen. Den nächsten Tag war die Temperatur mittags 39,4°, abends 39,2° und den folgenden Morgen 38,1° C. Trotz der vorübergehenden Temperaturerhöhung bot die Stute keine Krankheitssymptome dar, und hatte gute Freßlust. Den 29. April gebar sie ein kleines lebendes Fohlen, das jedoch auffallend schwach war, wenig Nahrung zu sich nahm und schnell atmete. Es starb den 1. Mai, und bei der Sektion waren die Lungen sehr unvollständig aufgeblasen (angeborene Atelektase). Die Nachgeburt fing erst nach 3 Stunden an, abzugehen, und ließ sich mit etwas Schwierigkeit herausziehen. Das Amnion war vielleicht ein wenig rötlicher als gewöhnlich, und an der Außenseite lag eine nicht geringe Menge eines rötlich-grauen, schleimig-eiterigen, klumpigen Exsudates. Im subchorialen Gewebe war ein wenig Oedem und solches fand sich in größerer Menge zwischen Allantois und Amnion. Das Exsudat enthielt Haufen von Abortusbacillen und beim Aussäen in Agarserum erhielt man schöne Kulturen von typischem Aussehen.“

Ueber diesen Versuch sagt Bang weiter folgendes:

„Wenn man auch nicht von einem einzelnen Versuche den Schluß ziehen darf, daß das dann und wann auch bei Stuten beobachtete, seuchenhafte Verwerfen immer von dem von uns entdeckten Abortusbacillus hervorgerufen wird, ist dies doch im höchsten Grade wahrscheinlich.“

Diese Meinung Bangs hat sich nicht eingebürgert, wenigstens wurde sie von anderen Untersuchern nicht bestätigt. Die englische Kommission, welche 1909 über die Abortusfrage berichtete, mißt dem Bangschen Bacillus keinen großen Wert für den Abortus der Stute bei. In dem Bericht (21) heißt es:

„As regards the mare, we have done no experiments at the laboratory, but a small number of observations have been made in the field and laboratory which go to show that the equine disease is not caused by the bacillus of cattle abortion. It may be mentioned however, that Bang has successfully infected mares with the latter microbe. Notwithstanding the probability, it would have been rash to conclude definitely that, because the various species of domesticated animals can be infected with the bovine bacillus in the laboratory, that organism is responsible for outbreaks of abortion among such species in the field. We have not accepted even the bovine bacillus as the cause of epizootic abortion in cattle on the evidence of laboratory experiments alone, but have added to it direct from the field.“

As already mentioned, the field observations make it probable that the bovine bacillus is not responsible for abortion in mares.“

Ein Mikroorganismus, welchem vielleicht für verschiedene Fälle ein großer ätiologischer Wert beizumessen ist, ist derjenige, welcher 1893 von Smith und Kilborne gefunden und beschrieben worden ist (1). Diesen Untersuchern gelang es, in Fällen von seuchenhaftem Abortus bei der Stute von der Vaginalschleimhaut einen Bacillus zu isolieren, welcher in seinen morphologischen und kulturellen Eigenschaften dem Hogcholerabacillus sehr ähnlich war.

Dieser Mikroorganismus, der also zu der Gruppe der Salmonella gehörte, war dabei noch charakterisiert durch sehr typisches Wachstum auf Schrägagar.

Smith und Kilborne konnten beweisen, daß die Bakterie auf der Vaginalschleimhaut gesunder, trächtiger und nicht trächtiger Stuten nicht vorkamen.

Es gelang ihnen aber nicht, mit dem gefundenen Bacillus Abortus bei einer trächtigen Stute herbeizuführen. Sie haben in dieser Hinsicht ihre Versuche nicht weit ausgedehnt; nur eine trächtige Stute und 2 trächtige Rinder wurden intravaginal mit geringer Dosis (10 ccm) Peptonbouillonkultur infiziert. Das Resultat war, daß am Tage nach der Infektion an der Vaginalschleimhaut ein geringes Exsudat zu beobachten war, welches ungefähr 2 Tage anhielt. 10 Tage nach der Infektion gebar die Stute ein lebendes Fohlen, das aber nicht ausgetragen war und nach 2 Tagen verendete. Obwohl die Stute zu jener Zeit auch an Influenza erkrankt war und die Frühgeburt also als Folge dieser Krankheit aufgefaßt werden könnte, muß doch wohl angenommen werden, daß die eingebrachten Bacillen die Ursache gewesen sind.

Außer diesen Versuchen an trächtigen Tieren hat Kilborne auch 2 Ferkel intravaginal mit 5 ccm Peptonbouillonkultur infiziert, um in dieser Weise die vermeinte Identität mit dem Bacillus suispestifer aufzuklären. Das Resultat dieser Versuche war, daß beide Tiere vollkommen gesund blieben.

Es ist ziemlich schwer, aus diesem Resultat eine Schlußfolgerung betreffs der Identität mit dem Hogcholerabacillus zu ziehen. Auf Grund des typischen Wachstums auf Schrägagar, welcher auch bei unserem Bacillus beobachtet wird, glaube ich nicht an diese Identität, und hoffe, später noch nähere Beweise dafür beizubringen. Durch Theobald Smith ist der Mikroorganismus auf seine morphologischen und kulturellen Eigenschaften untersucht worden. Ich will jetzt nicht näher darauf eingehen, weil ich später darauf zurückkomme.

12 Jahre nach der Publikation von Smith und Kilborne sagte Lignières (22) in einer „Séance de la Société centrale de Médecine-vétérinaire“ zu Paris 1905, daß es ihm oft gelungen wäre, in Fällen von seuchenhaftem Abortus eine Salmonella zu isolieren. Er sagt wörtlich:

„Dans plusieurs cas d'avortement épizootique étudiés en France et en Argentine, chez la jument, la brebis et la vache, j'ai isolé, parfois en abondance et en cultures pures, du sang, des organes des foetus, des enveloppes, de la matrice et quelquefois des organes des mères, des bacilles, pour la plupart mobiles, ayant les caractères des salmonella. Pour moi, ces avortements épizootiques, à apparition soudaine et à désapparition plus ou moins brusque, étaient de véritables salmonelloses.“

Es ist schwer, zu entscheiden, ob diese Salmonella von Lignières identisch sind mit der, welche von Smith und Kilborne gefunden ist, da Lignières keine genauere Beschreibung gegeben hat.

Da sich aber gezeigt hat, daß die Salmonella von Smith und Kilborne sich auch in Holland vorfindet, so halte ich es für sehr wahrscheinlich, daß Lignières denselben Mikroorganismus vor sich gehabt hat. Es ist wohl eigentümlich, daß beide Mitteilungen, die von Smith und Kilborne und jene von Lignières so wenig Beachtung gefunden haben, da kein einziges modernes Handbuch, außer Nocard et Leclainche „les Maladies Microbiennes des animaux“ (23), einen Paratyphus B-Enteritidisbacillus als Abortuserreger bei der Stute erwähnt.

Der einzige Bacillus, welchen man in dieser Hinsicht genannt findet, ist der Streptococcus von Ostertag und für andere Fälle wird auch dem Bangschen Bacillus Wert beigelegt. Wahrscheinlich ist dies dadurch, daß es weder Smith und Kilborne, noch Lignières gelang, mit ihren Abortus-Paratyphusbacillen Abortus zu provozieren. Außer den erwähnten Literaturangaben liegen noch einige andere über diesen Gegenstand vor, welche hier kurz referiert werden sollen. Im Jahre 1902 untersuchte Turner (24) einige Fälle von seuchenhaftem Abortus bei Stuten in dem Staate Montana. Meistens wurden die Früchte tot ausgestoßen, doch kam es auch vor, daß die Stuten schwache Fohlen gebären, die nachher an Polyarthrititis verendeten.

Turner gelang es, aus den abortierten Hüllen einen Mikroorganismus zu züchten, womit es möglich war, bei trächtigen Stuten Abortus herbeizuführen, und welcher in einigen Fällen auch imstande war, Polyarthrititis bei den Fohlen zu verursachen. Weil keine weiteren Angaben über diesen Mikroorganismus vorliegen und auch der Infektionsmodus von Turner nicht angegeben wird, verliert diese Mitteilung sehr an Interesse.

Eine wichtigere Publikation machte Polakow im Jahre 1904 (25). Diesem Untersucher gelang es, aus Blut, Organen und Hüllen abortierter Früchte einen beweglichen Bacillus von sehr pathogener Natur für Meerschweinchen und Mäuse zu züchten, der imstande war, Abortus bei der Stute zu erregen. Intravenös einem 1 Monat alten Fohlen injiziert, verursachte dieser Mikrob Polyarthrititis.

Es ist mir nicht gelungen, die Originalpublikation Polakows zu bekommen, und die erwähnten Angaben stammen von Kowalewsky, welcher die Arbeit Polakows kurz referiert (26). Dieses ist zu bedauern, da der Bacillus von Polakow, soweit aus Kowalewskys Angaben hervorgeht, einigermaßen übereinstimmt mit dem Paratyphus B-Abortusbacillus, welcher auf der Insel Tholen bei dem Stutenabortus vorlag.

Gerade in der allerletzten Zeit ist wieder eine Mitteilung über den Gegenstand erschienen von Dassonville und Rivière (27). Diesen Untersuchern ist es gelungen, aus drei abortierten Fohlen und aus einem, welches an Polyarthrititis gestorben war, denselben Mikroorganismus zu züchten. Diese Bakterie, welche sich immer in Reinkultur im Blute und Organen vorfand, war imstande, bei kleinen Versuchstieren Abortus herbeizuführen. Es war Dassonville und Rivière nicht möglich, Versuche bei größeren Tieren anzustellen, so daß die abortive Wirkung des betreffenden Bacillus für die Stute noch nicht bewiesen ist. Es ist aber sehr wahrscheinlich, daß der Bacillus, welcher nach genannten Untersuchern verschieden ist von der Salmonella von Smith und Kilborne (1), bei Stuten Abortus verursachen kann.

Aus allen diesen Literaturangaben geht hervor, daß verschiedene Bakterien Abortus bei der Stute herbeiführen können, und daß nicht wie bei dem Rinderabortus (Bangscher Bacillus) eine allgemeingültige mikrobielle Ursache anzunehmen ist.

### III. Eigene Untersuchungen.

Das Untersuchungsmaterial und nähere Angaben über den Verlauf der Seuche wurden hauptsächlich von Herrn Tierarzt J. v. d. Sande zu Steenbergem bezogen, dem ich an dieser Stelle dafür danke.

#### a) Allgemeines.

Die Fälle von seuchenhaftem Abortus bei der Stute, wovon hier die Rede ist, kamen hauptsächlich in der Provinz Zeeland vor, in Gegenden, wo die Pferdezucht allgemein betrieben wird; das Auftreten der Seuche verursachte damals erheblichen Schaden, weil auf mehreren Gehöften alle Stuten abortierten. Obwohl die Rinder gewöhnlich ebenfalls der Infektion ausgesetzt waren, ist bei diesen Tieren die Seuche nicht aufgetreten, ebensowenig wie bei Schafen, Ziegen und Schweinen.

Insoweit Angaben vorliegen, abortierten die Stuten in jedem Stadium der Trächtigkeit, jedoch meistens im 7., 8. und 9. Monat. War die Trächtigkeit weiter fortgeschritten, dann wurden die Fälle seltener, während vor dem 4. Monat das Verwerfen selten beobachtet wurde.

Die Krankheitserscheinungen, welche dem Abortus vorangingen, waren so wenig augenfällig, daß tatsächlich das Absetzen der Frucht die einzige auffallende Erscheinung bildete. Hatte man jedoch Gelegenheit, die Tiere genau zu beobachten, dann wurde einige Tage vor dem Verwerfen in den meisten Fällen eine kaum merkbare Euteranschwellung bemerkt und meistens auch eine geringe Rötung der Vulvaschleimhaut. In einigen Fällen ging dem Abortus eine geringe Freßlust und leichte Steigerung der Körpertemperatur voran. Mit dem Ausstoßen der Frucht war die Krankheit in der Regel abgelaufen und konnten die Tiere 2 oder 3 Tage nachher ihre Arbeit wieder aufnehmen. Damit soll aber nicht gesagt sein, daß ihre Gesundheit gar nicht beeinträchtigt wurde. Wenn man die Eigentümer darüber hörte, wurde mitgeteilt, daß die Pferde öfters erheblich geschwächt waren und während längerer Zeit im Nahrungszustande zurückblieben.

Komplikationen, wie Metritis puerperalis, Arthritis infectiosa, Hufrehe, Phlebitis und Mastitis, wurden im Verlaufe dieser Seuche oder später selten wahrgenommen.

Ueber die Ursache war gerade so viel bekannt, daß man mit großer Wahrscheinlichkeit Infektion annehmen durfte. Die Tatsache, daß beim Auftreten eines Abortusfalles in einem Bestande auch die anderen trächtigen Stuten bald verwarfen, gab zu dieser Annahme Veranlassung.

In welcher Weise der eventuelle Infektionserreger in den Körper eindrang und den Abortus verursachte, war natürlich unbekannt. Bei dem seuchenhaften Abortus der Rinder nimmt man fast allgemein an, daß die Infektion meistens vom Verdauungskanal ausgeht und daß die vaginale Ansteckung eine untergeordnete Stellung einnimmt. Bei der Seuche der Pferde war all dieses noch näher zu untersuchen.

#### b) Versuche an trächtigen Meerschweinchen.

Am 14. Okt. 1911 wurden 3 trächtige Meerschweinchen mit dem früher (p. 39) erwähnten isolierten Bacillus infiziert. Mittels einer Pipette wurde diesen Tieren intravaginal, ungefähr in der Nähe des Ostium uteri, Kulturflüssigkeit eingebracht. Die Operation war sehr einfach und jedes Tier bekam ungefähr 3 ccm einer mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschüttelten, 24 Stunden alten Agarkultur.

Eins von den Meerschweinchen verwarf seine Früchte nach 3 Tagen. Sofort darauf ist das Tier getötet worden, und es gelang, die eingebrachten Bacillen aus den Organen von Mutter und Früchten zu isolieren. Auch in den Hüllen waren sie in Reinkultur vorhanden. Die beiden anderen Meerschweinchen verwarfen gleichfalls resp. 11 und 13 Tage

nach der Infektion. In diesen Fällen ist die Isolierung des Bacillus aus den Jungen nicht gelungen.

Wohl gelang es aber einige Tage später, die Bacillen aus Vagina und Uterus von einem dieser Meerschweinchen zu züchten.

Am 9. Nov. 1911, also 26 Tage nach der Injektion, sind beide Meerschweinchen verendet. Bei beiden Tierchen war der Obduktionsbefund derselbe. In der Leber waren käsige Herdchen zu sehen, während Erscheinungen fibrinöser Peritonitis an der Oberfläche dieses Organs bestanden. Aus den käsigen Herdchen wurde der eingebrachte Bacillus gezüchtet.

Obwohl der Verlauf bei den 3 Meerschweinchen nicht derselbe war, so war doch in jedem Fall Abortus aufgetreten. Der für die Infektion benutzte Bacillus war der, welcher aus dem ersten untersuchten Fohlen isoliert worden war (Stamm I).

#### c) Versuche an trächtigen Kaninchen.

Am 25. Okt. wurden 5 trächtige Kaninchen verschiedener Art und Weise mit dem Paratyphus B-Abortusbacillus infiziert. Bei diesem Versuche wurden zwei verschiedene Stämme von Bakterien verwendet. Der erste Stamm war der eingangs erwähnte Stamm I (p. 39), der andere war ein Paratyphus B-Bacillus, welcher am 23. Okt. 1911 aus einem abortierten Fohlen zu Tholen gezüchtet worden war und in seinen morphologischen, kulturellen und agglutinatorischen Eigenschaften Stamm I völlig gleich kam (Stamm II).

Kaninchen I erhielt intravaginal 10 ccm einer mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten Bakterienaufschwemmung (Stamm I und Stamm II).

Kaninchen II bekam intraperitoneal  $\frac{1}{2}$  ccm Bakterienaufschwemmung (Stamm I).

Kaninchen III wurde intravenös  $\frac{1}{2}$  ccm (Stamm I) eingespritzt.

Kaninchen IV intravenös  $\frac{1}{2}$  ccm (Stamm II).

Kaninchen V subkutan in den Rücken 2 ccm (Stamm I).

Das Resultat war folgendes:

Kaninchen I und V, welche intravaginal und subkutan geimpft wurden, sind völlig gesund geblieben.

Die Kaninchen II, III und IV starben 3, 3 und 8 Tage nach der Infektion; bei keinem derselben wurden die Früchte abgesetzt. Jedoch war der Obduktionsbefund bei Kaninchen IV interessant, da bei diesem Tier der Uterus eitrig entzündet war, in welchem sich zwei mazerierte Früchte befanden. Bei den beiden anderen Kaninchen (II und III) wurde ein derartiger Befund nicht gemacht.

Der Leichenbefund stimmte übrigens bei den 3 Kaninchen ziemlich überein. Bei jedem lag das Bild einer Septikämie vor, und waren die Organe blutreich und angeschwollen. Es gelang, bei allen 3 Tieren den injizierten Paratyphus B-Bacillus aus den Organen zu züchten.

Aus den Versuchen geht hervor, daß bei Kaninchen (abgesehen von den zwei mazerierten Früchten bei Kaninchen IV) kein Abortus erregt wurde.

#### d) Agglutination mit dem Serum von Stuten, welche abortiert hatten.

Bevor mit den Versuchen bei größeren Tieren angefangen wurde, war es wünschenswert, zu wissen, ob das Blutserum von Stuten, welche abortiert hatten, vielleicht Agglutinine für den gefundenen Bacillus ent-

hielt, was für eine Schlußfolgerung auf einen ursächlichen Zusammenhang wohl nötig war. Das Serum von 2 Stuten in Tholen, welche 1 Woche vorher abortiert hatten, wurde in steigenden Verdünnungen mit den Bacillen zusammengebracht. Die Technik dieser Agglutination war folgende:

Bekanntlich gelingt es sehr leicht, durch Abschütteln von Agarkulturen mit physiologischer Kochsalzlösung eine gute und ziemlich homogene Paratyphusbacillensuspension zu bekommen. Bei dem gefundenen Bacillus war solches nicht der Fall, weil er ein stark zusammenhängendes Häutchen auf dem Agarnährboden bildete. Dieses Häutchen ließ sich sehr schwer in der Flüssigkeit verteilen, und es war langes und energisches Schütteln nötig, bevor eine genügend homogene Suspension hergestellt worden war. War dies aber der Fall, dann bildete die Agglutination weiter keine Schwierigkeiten. Zwei Serien von Agglutinationsröhrchen wurden mit je  $\frac{1}{2}$  ccm Kulturflüssigkeit gefüllt. Zu der einen Serie von Röhrchen wurde in fallender Menge normales Pferdeserum hinzugefügt, während die andere Serie das zu untersuchende bekam. Schließlich wurden alle Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung zu einer Gesamtmenge von 1 ccm angefüllt und bei  $37^{\circ}$  C bebrütet.

Das Resultat wurde nach 6-stündigem Verweilen im Brutschrank bestimmt, oder die Röhrchen verweilten nötigenfalls noch 12 Stunden im Eisschrank. Die ersten Agglutinationsversuche wurden mit lebenden und auch mit getöteten Bacillen vorgenommen. Hier sei gleich gesagt, daß die erhaltenen Resultate mit den lebenden Bacillen weitaus die schönsten waren und daß daher im weiteren Verlauf unserer Untersuchungen immer mit lebenden Bacillen gearbeitet worden ist. Der Agglutinationstiter des kranken Serums erwies sich weit höher als der des normalen. Während letzteres in einer Verdünnung von 1:300 nicht mehr agglutinierte, war ersteres dazu noch in einer Verdünnung von weit über 1:1000 imstande. Es war also deutlich, daß das Serum der Pferde in Tholen spezifische Antistoffe, und zwar Agglutinine, gegen den isolierten Bacillus enthielt.

#### e) Erster Infektionsversuch an Rindern.

Am 8. Dez. 1911 stellte Herr D. Maas in Tholen 2 junge Rinder, von welchen eins trächtig war, zu meiner Verfügung. An jenem Tage wurden beide Tiere intravenös mit je 1 ccm Bakteriensuspension (Stamm I) injiziert. Die Suspension war wieder mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt.

Das einzige Krankheitssymptom, welches sich bei den Rindern zeigte, war eine Erhöhung der Körpertemperatur. Diese war abends nach der Einspritzung beim trächtigen Rinde  $39,6^{\circ}$  C und beim nicht trächtigen  $40,1^{\circ}$  C. Am nächsten Tage  $40,3^{\circ}$  C resp.  $41,3^{\circ}$  C, um am 4. Tage wieder zur Norm zurückzukehren.

Weiter blieben die Tiere völlig normal bis zum 8. Jan. 1912, wo das trächtige Rind verwarf. Die Inkubationsperiode hatte also gerade 1 Monat gedauert. Höchstens 24 Stunden später wurde diese Frucht schon bakteriologisch verarbeitet, und gelang es, aus allen Organen, Geweben und Hüllen die injizierten Bacillen zu züchten. Das nicht trächtige Rind ist mit Ausnahme der oben erwähnten Temperatursteigerung immer vollständig gesund geblieben.

**f) Zweiter Infektionsversuch beim Rind.**

Am 1. März 1912 ist wieder ein Versuch bei einem trächtigen Rinde angestellt worden. Das völlig gesunde Tier bekam gleichfalls 1 ccm Bakteriensuspension intravenös. Die Temperatur stieg am 3. Tage nach der Einspritzung bis  $40,4^{\circ}\text{C}$  und blieb danach während längerer Zeit erhöht, war jedoch am 12. Tage wieder normal. Trotz der Temperatursteigerung war die Freßlust stets gut und sah das Tier vollkommen gesund aus. Am 15. März, also 15 Tage nach der Injektion, stieß das Rind seine Frucht aus. Der Abortus geschah ohne Beschwerden und die Fruchthüllen gingen zur richtigen Zeit ab. Das Tier blieb danach vollkommen gesund.

Die Obduktion der Frucht und ihrer Hüllen gab folgendes zu sehen:

Die Haut sah normal aus. Das subkutane Bindegewebe war serös infiltriert; dasselbe war an dem Nabelstrange der Fall. In Bauch-, Brust- und Pericardialhöhle war eine geringe Menge seröser, gelbfarbiger Flüssigkeit anwesend. Das Peritoneum parietale war normal, während das Peritoneum viscerales ein wenig stärker injiziert war, als es gewöhnlich der Fall ist. Die Milz war normal, die Leber und die Nieren waren blutreich und etwas geschwollen. Ebenfalls war die Schleimhaut von Magen und Därmen verdickt und ein wenig blutig.

Das Brustfell, die Lungen und das Herz waren normal. Der ganze Obduktionsbefund stimmte mit dem bei den Fohlen Beobachteten überein, doch im allgemeinen traten die septikämischen Organveränderungen weniger zutage und es waren in den Organen auch weniger Bacillen anwesend.

Aus den erwähnten Versuchen geht also hervor, daß es gelingen kann, mittels des aus den Fohlen isolierten Paratyphus B-Bacillus bei Rindern nach intravenöser Einspritzung Abortus herbeizuführen. Merkwürdig ist es, daß man also bei Rindern einen ganz ähnlichen Abortus, wie er bei der Stute vorkommt, experimentell durch den gefundenen Paratyphus B-Bacillus erzeugen kann, welcher Abortus von dem durch den Bangschen Bacillus verursachten verschieden ist. Durch den Paratyphus B-Abortusbacillus wird die Gesundheit des Rindes, wie bei der Stute, wenig gestört und bildet das Verwerfen das einzige auffallende Symptom der Krankheit, da Exsudat in Uterus und Fruchthüllen fehlt.

**g) Erster intravenöser Infektionsversuch an einer trächtigen Stute.**

Eine 15 Jahre alte kaltblütige Stute wurde am 1. März 1912 mit 1 ccm Bakteriensuspension intravenös eingespritzt. Die Stute war in dem 8. Monat der Trächtigkeit und kam aus einer Gegend, wo das seuchenhafte Verwerfen unbekannt war.

Am 2. Tag nach der Infektion zeigte das Tier eine Körpertemperatur von  $40,3^{\circ}\text{C}$ , am nächsten Tag war sie jedoch wieder normal. Trotz der vorübergehenden Temperaturerhöhung bot die Stute keine Krankheits-symptome dar und hatte gute Freßlust. Am 11. März abortierte sie ihre Frucht ohne vorangehende Erscheinungen. Höchstens war 1 oder 2 Tage zuvor eine kaum wahrnehmbare Euteranschwellung entstanden. Dieser Befund stimmte völlig überein mit den auf der Insel Tholen wahrgenommenen Tatsachen. Am Abend nach dem Abortus zeigte das Versuchstier eine ziemlich starke Temperatursteigerung ( $39,3^{\circ}\text{C}$ ), welche am nächsten Tage bis  $40,8^{\circ}\text{C}$  stieg, wohl aber seine Ursache in dem

Zurückbleiben eines Teiles der Nachgeburt fand. Sobald diese ausgestoßen war, ging die Temperatur zurück.

Aus diesem Falle geht hervor, daß Komplikationen nach dem Abortus nicht absolut ausgeschlossen sind. Das ausgestoßene Fohlen war ungefähr 9 Monate alt und zeigte folgenden Obduktionsbefund:

Die Haut war normal und behaart. Das subkutane Bindegewebe war sulzig infiltriert, welches Filtrat auch in der Warthonsche Sulze des Nabelstranges sichtbar war. Im freien Raume der Bauch- und Brusthöhle, sowie im Herzbeutel war eine Ansammlung sero-hämorrhagischer Flüssigkeit zu finden.

Das Peritoneum sah leicht entzündet aus, besonders der viscerele Teil desselben. Die Schleimhaut der Därme war hämorrhagisch und geschwollen. Die Milz schien normal, wogegen Leber und Nieren sehr blutreich waren. Die Pleura und die Lungen waren normal, das Herz war ein wenig schlaff.

An den Fruchthüllen war außer einer leichten Rötung der Allantois wenig Besonderes zu sehen.

Mikroskopisch waren in allen Organen der Frucht, wie auch in ihren Hüllen, kleine Stäbchen zu finden, welche meistens in Gruppen beisammen lagen.

Dieses Bild stimmte also völlig mit demjenigen, welches wir unter natürlichen Umständen beobachtet hatten, überein. Es gelang, aus allen Organen und Hüllen den injizierten Paratyphus B-Bacillus in Reinkultur zu züchten. 6 Tage nach dem Abortus zeigte das Serum dieser Stute einen Agglutinationstiter über 1:1000, während normales Kontrollserum nur bis 1:300 agglutinierte. Aus dem Versuch geht also hervor, daß es durch intravenöse Injektion des studierten Bacillus möglich ist, bei trächtigen Stuten Abortus herbeizuführen und ein Krankheitsbild zu erzeugen, das in seinen Eigenschaften mit der Praxis im Einklang steht. Sehr wahrscheinlich war also in dem gefundenen Bacillus wirklich die Ursache des Abortus auf der Insel Tholen zu sehen. Nur ist zu bemerken, daß die intravenöse Infektion unter natürlichen Umständen nicht vorkommt. Darum wurden weitere Versuche angestellt.

#### b) Fütterungsversuch und intravaginale Infektion bei einer trächtigen Stute.

Am 29. März 1912 wurden unter das Trinkwasser einer ziemlich alten Stute, welche 9 Monate trächtig war, 4 abgeschüttelte Agarkulturen gemischt. Obwohl dem Tier während 2mal 24 Stunden kein Trinkwasser gereicht war, weigerte es sich, zu trinken. Doch muß die Stute wohl eine kleine Menge Kultur aufgenommen haben, da sie das Maul einige Male tief ins Wasser hineinsteckte. Vielleicht kann diese Tatsache den weiteren Verlauf dieses Versuches erklären. 3 Tage später wurde wiederum versucht, das Tier eine abgeschüttelte Kulturmenge mittels des Trinkwassers aufnehmen zu lassen.

Auch jetzt hatte das Tier nicht getrunken, aber das infizierte Wasser wurde wieder zu einem minimalen Teile aufgenommen.

Endlich am 5. April gelang es, das Tier 4 abgeschüttelte Agarkulturen mit dem Trinkwasser aufnehmen zu lassen. Den 9. April bekam das Tier wieder 2 abgeschüttelte Kulturen (3 Tage alt) unter den Hafer gemischt, welcher gern gefressen wurde. Den 10. April wurde der Hafer aufs neue infiziert, aber das Tier weigerte sich zu fressen. Den 11. April wurden 2 Agarkulturen mit dem Hafer gefressen. Im ganzen hat das



Tier also in einem Zeitraum von 6 Tagen 8 abgeschüttelte Agarkulturen zu sich genommen. Während dieser Zeit war es immer völlig gesund und zeigte fortwährend guten Appetit, wenn nur reines Futter gegeben wurde. Die Temperatur blieb stets normal, abgesehen von einer geringen Steigerung am 7. April.

Am 26. April war die Stute noch völlig gesund, während ihr Serum schon einen Agglutinationstiter über 1:1400 zeigte. Der Paratyphusbacillus war also per os auch imstande, Agglutinine im Blute auszulösen.

Die Stute zeigte weiter kein einziges Symptom, welches auf ein baldiges Verwerfen deutete. Vielleicht war eine gewisse Immunität aufgetreten.

Es wurde darum versucht, mittels intravaginaler Infektion den Abortus herbeizuführen. Zu diesem Zwecke bekam das Tier am 27. April 1912 500 g einer 24 Stunden alten Bouillonkultur in die Vagina. Diese Flüssigkeit wurde mittels Schlauch und Trichter eingebracht und blieb völlig zurück. Das Tier reagierte nur mit einer sehr leichten Temperatursteigerung (38,3° C), welche am Abend des 2. Tages auftrat und am 4. Tage wieder verschwunden war.

Appetit und weiteres Befinden blieben gut. In den letzten Tagen des April fing das Euter zu schwellen an und war ein leichtes Oedem in der Bauchgegend zu beobachten. Diese Erscheinungen waren als die prodromalen Symptome der normalen Geburt zu deuten.

Am 11. Mai gebar die Stute ein gut ausgetragenes Fohlen. Wir sind imstande gewesen, die Mutter und das junge Tier noch während einiger Zeit zu beobachten; von schädlichen Folgen der energischen Infektion ist nichts gespürt worden. Das Resultat des Fütterungsversuches und der späteren intravaginalen Infektion ist also durchaus negativ gewesen. Dieser Erfolg stimmt einigermaßen überein mit demjenigen, welchen Kilborne 1891 (1) in Amerika erhielt. Ihm war es damals nicht möglich, mittels intravaginaler Injektion bei einer trächtigen Stute und 2 trächtigen Rindern Abortus herbeizuführen.

Ob in unserem Versuch die Stute sich wirklich allmählich immunisiert hat, ist nicht weiter nachzuweisen. Jedoch war der erhöhte Agglutinationstiter ein Anzeichen, daß der Organismus wirklich im Begriff war, Immunstoffe zu bilden. Wäre wirklich Immunität eingetreten, dann hätte auch eine übrigens wirksame intravaginale Infektion ohne Erfolg bleiben können. Daß eine natürliche Resistenz vorgelegen hat, ist nicht wahrscheinlich.

#### i) Zwei weitere Fütterungsversuche bei trächtigen Stuten.

Am 24. April 1912 bekamen 2 Stuten, A und B, welche ungefähr 9 Monate trächtig waren, je eine 24 Stunden alte, mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschüttelte Agarkultur unter den Hafer gemischt. Das Futter wurde von beiden Tieren gut aufgenommen. Am nächsten Tag war die Stute A sehr krank (Körpertemperatur 40,6, Appetitmangel), während das andere Tier (B) vollkommen gesund schien. Die Krankheit von Stute A war Ursache, daß wir beschlossen, das Tier nicht weiter zu infizieren. Stute B bekam jedoch am nächsten Tage dieselbe Bakterienmenge noch einmal.

Die Resultate bei Stute A waren folgende:

Die Temperaturerhöhung war nach 3 Tagen verschwunden, der Appetit blieb jedoch sehr mangelhaft.

Am 4. Mai stieg die Körpertemperatur wiederum. Jetzt wurde aber bemerkt, daß sie nicht eine Folge des Versuches war, denn die Kehlgangsymphdrüsen schwellen an und fluktuieren nach einigen weiteren Tagen. Die Temperatur war am 9. Mai 39,1, um nach der Entleerung des Eiters am 10. Mai bald wieder zur Norm herabzusinken. Aus dem entleerten Eiter wurde der *Streptococcus equi* isoliert. Der gefütterte Bacillus war in dem Druseeiter nicht anwesend. Die Krankheit endete mit vollständiger Heilung und das Tier blieb weiter vollkommen normal.

Am 15. Mai (21 Tage nach der Fütterungsinfektion) wurde das Blut der Stute auf Agglutinine untersucht. Das Serum hatte einen gleich hohen Agglutinationstiter wie normales Pferdeserum. Beide Sera waren in Verdünnungen, die höher als 1:300 waren, nicht imstande, den Paratyphus B-Abortusbacillus zu agglutinieren. Da die normale Geburt in der ersten Hälfte des Juni stattfinden mußte, so wurde beschlossen, eine intravenöse Infektion zu versuchen, weil schon fast 4 Wochen nach der Fütterung vergangen waren. Am 19. Mai bekam das Tier 1 ccm Bakterienaufschwemmung in die Jugularvene. Diese Dosis war bei unseren vorigen Versuchen imstande gewesen, Abortus herbeizuführen.

Schon am Abend nach der intravenösen Injektion stieg die Körpertemperatur bis 39,9° C, am nächsten Tage war sie 39,4° C, um dann schnell bis zur Norm herabzusinken. Das Tier behielt während dieser Fieberperiode gute Freßlust und zeigte keine ernsthaften Krankheits-symptome.

In unserem vorigen Versuche war das Inkubationsstadium nach der intravenösen Injektion 11 Tage gewesen. Als am 11. Tage nach der Injektion kein einziges auf Abortus hindeutendes Symptom zu bemerken war, wurde die Stute wieder (jetzt mit 2 ccm Flüssigkeit) intravenös infiziert. Am Tage nach der Injektion, welche am 30. Mai stattfand, erreichte die Temperatur 39,6° C, war jedoch am folgenden Tag wieder normal. Das Tier blieb bis zum 7. Juni völlig gesund, und warf am 8. Juni ohne prodromale Krankheitserscheinungen ein totes Fohlen. Die Hüllen wurden zu richtiger Zeit ausgestoßen und die Stute zeigte keine weiteren Krankheitssymptome. Bei der Sektion der Frucht wurde folgendes notiert: Männliches Fohlen und ungefähr 10½ Monate alt. Das subkutane Bindegewebe war wie bei den früheren Früchten ödematös, wie auch das des Nabelstranges. In Bauch-, Brust- und Pericardialhöhle seröse Flüssigkeit in geringer Menge. Das Peritoneum war entzündet, besonders der viscerele Teil, unter welchem hier und da Blutungen sich zeigten. Die Darmschleimhaut war verdickt und in Duodenum, Jejunum und Ileum ziemlich stark injiziert. Leber und Nieren waren ein wenig vergrößert. Milz, Herz und Lungen waren normal. Die Pleura war nicht sehr glänzend.

Das Sektionsbild stimmte also im großen und ganzen mit demjenigen der früheren Föten überein. Die Klatschpräparate, welche aus den verschiedenen Organen hergestellt wurden, zeigten sehr spärlich die injizierten Bacillen. In Herzblut und Nieren waren sie gar nicht zu finden. Die aus den Organen gewonnenen Kulturen enthielten die eingespritzten Bacillen rein. Es gelang, solche Reinkulturen zu bekommen aus Milz, Leber, Lungen Bauch- und Brusthöhle, Pericardium, Conjunctiva, Haut, Nabelstrang und Gehirn. Kulturen aus dem Kniegelenk blieben steril. Die Fruchthüllen enthielten die Bacillen reichlich und in Reinkultur. Entzündungssymptome waren an den Hüllen nicht zu sehen.

Hatte also die Fütterung kein Resultat ergeben, so führte die wiederholte intravenöse Infektion Abortus herbei.

Wahrscheinlich war die Dosis der zuerst eingespritzten Bakterienaufschwemmung zu gering, um Abortus zu verursachen, während nach der späteren Injektion der größeren Menge dieser wohl zustande kam.

Dadurch wurde jedoch das Resultat der früheren Versuche bestätigt, d. h. daß es gelingt, mittels intravenöser Injektion der Bacillen Verwerfen zu verursachen, ohne das Muttertier in seiner Gesundheit zu beeinträchtigen.

Anders war der Verlauf bei der Stute B.

Am 25. April war die Temperatur etwas erhöht, übrigens das Tier vollkommen normal und es bekam dann, wie schon erwähnt, wieder dieselbe Menge Kultur.

Hierauf zeigte das Tier kein einziges Krankheitssymptom und am 29. April 1912 war die Körpertemperatur noch ganz normal. Das Tier blieb munter und gesund, bis am 6. Mai, also 12 Tage nach der ersten Injektion, Abortus folgte ohne Prodromalsymptome, wie es auch bei den auf Tholen beobachteten Fällen geschah. Die Temperatur war am nächsten Tage  $38,7^{\circ}\text{C}$  und wurde bald wieder normal. Von einer Gebärmutterentzündung ist kein einziges Symptom beobachtet worden. Die Sektion der Frucht und ihrer Hüllen ergab folgendes: Chorion und Allantois zeigten an verschiedenen Stellen eine schmutzige hämorrhagische Verfärbung und waren stellenweise entzündet. Das Amnion war normal. Der Fötus war etwa  $9\frac{1}{2}$  Monate alt. Die Haut war behaart und die Hornschuhe waren schon ziemlich hart. Ein geringes subkutanes Oedem war vorhanden.

Der Nabelstrang war geschwollen, und auch in diesem Falle war eine geringe Menge sero-hämorrhagischer Flüssigkeit in Bauch-, Brust- und Pericardialhöhle zu sehen. Das Peritoneum war injiziert, die Mucosa der Därme geschwollen und an verschiedenen Stellen blutig. Milz normal, Leber und Nieren geschwollen und weicher als gewöhnlich. Lungen und Herz ohne Veränderungen. Mikroskopisch gelang es, in den verschiedenen Organen Stäbchenbakterien nachzuweisen. Kulturen aus den Organen, Haut, Subcutis, Darminhalt, Muskulatur, Gelenken und sogar aus dem Gehirn ergaben den Paratyphus-B-Bacillus rein. Auch die Hüllen gaben die betreffenden Bacillen.

Aus diesem Versuch läßt sich schließen:

- 1) Daß es möglich ist, durch Verabreichung des gefundenen Paratyphus-B-Bacillus per os bei der Stute Abortus herbeizuführen;
- 2) daß dieser Bacillus alsdann einen Verlauf provoziert, welcher völlig mit dem in der Praxis beobachteten übereinstimmt;
- 3) daß bei dem Versuche die Obduktionsbefunde gleichfalls mit jenen der natürlichen Fälle übereinstimmen und der spezifische Bacillus ebenfalls rein aus Organen und Hüllen zu züchten ist.

Aus allen den erwähnten Tatsachen war wohl zu schließen, daß der gefundene Paratyphus-B-Bacillus die Ursache des untersuchten seuchenhaften Verwerfens in der Provinz Zeeland darstellte.

j) Parallelfütterungsversuch bei trächtigen Ziegen mit dem Bacillus des Pferdeabortus und mit einem für Ziegen sehr pathogenen Paratyphus B-Bacillus.

Am 13. Jan. 1913 wurde einer Ziege, welche ungefähr  $1\frac{1}{2}$  Monat trächtig war, mittels einer Flasche  $1\frac{1}{2}$  abgeschüttelte Agarkultur

(24 Stunden alt) des Pferde-Paratyphus-B-Bacillus eingegeben. Die Ziege, welche beim Anfange des Versuches eine Körpertemperatur von  $38,3^{\circ}\text{C}$  zeigte, hatte am nächsten Tage eine Temperatur von  $40,8^{\circ}\text{C}$ , welche bald wieder normal wurde. Weiter hat das Tier keine Krankheitserscheinungen gezeigt. Am 13. Febr., also 1 Monat später, wurden dem Tiere wiederum 20 ccm Bouillonkultur (2 Tage alt) verabreicht. Nach dieser intensiven Infektion hat das Tier kein einziges Krankheitssymptom gezeigt und ist nachher immer völlig gesund geblieben. Am 25. April gebar es 2 gesunde Lämmer. In den ausgestoßenen Hüllen waren die eingebrachten Bacillen nicht zu finden. Auch die Ziege scheint also gegen Fütterung mit den Pferdeabortusbacillen sehr resistent und mittels derselben nicht zum Abortieren zu bringen zu sein.

Am Institut für parasitäre und Infektionskrankheiten war in derselben Zeit, wo die Untersuchungen über den Abortus der Stute im Gange waren, eine Seuche bei Ziegen, die hauptsächlich als Euteritis auftrat, von Prof. de Jong und mir studiert worden. Als Ursache wurde wieder ein Paratyphus B-Bacillus, jedoch mit anderen Merkmalen als der Paratyphus B-Abortusbacillus isoliert. Zum Vergleich mit dem vorigen Versuche wurde mit dem Ziegenbacillus ein Fütterungsversuch bei einer trächtigen Ziege angestellt.

Am 7. März wurden  $\pm 20$  ccm einer 2 Tage alten Bouillonkultur mit einer Flasche eingegeben. Nach der Infektion stieg die Körpertemperatur bald bis zu  $41^{\circ}$  und das Tier wurde sehr krank.

Als bald trat Durchfall ein, während die Körpertemperatur immer sehr erhöht blieb. Am 14. März erfolgte Abortus. Obwohl Frucht und Hülle einer genauen bakteriologischen Untersuchung unterzogen wurden, gelang es nicht, den gefütterten Paratyphus B-Bacillus zu züchten. Die Paratyphus B-Bacillen waren also in diesem Falle nicht imstande, die Placenta zu passieren, und der Abortus war also anderer Natur als bei der Stute, welche nach Fütterung abortiert hatte. Die verschiedene Natur der beiden Bacillen war aus der abweichenden Wirkung bei den Ziegen ersichtlich, und der aus den Fohlen isolierte Paratyphus B-Bacillus ist durchaus nicht, was seine Pathogenität anbelangt, mit anderen dergartigen Mikroorganismen zu identifizieren.

#### k) Immunität.

##### 1. Erworbene Immunität.

Wenn wir den Verlauf des seuchenhaften Verwerfens in den Jahren 1911—1912 und 1912—1913 näher betrachten, so sehen wir, daß die Krankheit 1911—1912 seuchenartig auftrat, während im Jahre 1912—1913 nur sporadische Fälle vorkamen. Daß bei diesen sporadischen Fällen aber derselbe spezifische Paratyphusbacillus im Spiele war, konnte ich an 3 abortierten Früchten bakteriologisch feststellen. Obwohl also feststand, daß das Virus noch in der durchseuchten Gegend anwesend war, kamen die Fälle 1912—1913 nur selten vor, und brachten auch die meisten Stuten, welche 1911—1912 abortierten, in den Jahren 1912—1913 ein gut ausgetragenes Fohlen. Aber es gab auch Stuten, welche im Jahre 1912 wiederum das Fohlen verwarfen. Ich konnte 2 solche Fälle untersuchen und in beiden gelang es, den Paratyphus B-Abortusbacillus zu züchten (Stamm III).

Bei solchen Tieren war Immunität also nicht aufgetreten.

## 2. Natürliche Resistenz.

Soweit ersichtlich, war die natürliche Resistenz gegen die Infektion nicht groß. In Stallungen, wo 12 oder mehr trächtige Stuten beisammen standen, verwarfen alle Tiere ohne Ausnahme. Jedenfalls ist die Resistenz der Stuten weit geringer als die der Rinder, denn, obwohl es gelingt, diese Tiere nach intravenöser Infektion abortieren zu lassen, wurde der Paratyphus B-Abortus bei Rindern außer von Lignières (22) bis heute spontan nicht beobachtet. Auch die Eigentümer vertreten die Meinung, daß die Rinder von der Seuche nicht heimgesucht werden.

## 3. Aktive Immunisierung bei Stuten.

Geführt durch die aktiven Immunitätsverhältnisse bei typhösen und paratyphösen Erkrankungen, beschlossen wir, zu untersuchen, ob es auch möglich sei, mittels aktiver Immunisierung trächtige Stuten gegen das Verwerfen zu schützen.

Der Versuch wurde am 13. Okt. 1913 mit einer Stute, welche ungefähr  $4\frac{1}{2}$  Monate trächtig war, angefangen. Der Impfstoff wurde auf folgende Weise bereitet:

Eine Rouxsche Flasche wurde in horizontaler Stellung mit flüssigem Peptonagar gefüllt und der Nährboden in dieser Lage zum Erstarren gebracht. Nach Impfung der Agaroberfläche mit dem Bacillus wurde die Flasche während 24 Stunden in den Brutofen bei  $37^{\circ}\text{C}$  gestellt. Dann war die Oberfläche des Agars mit einem papierähnlichen Belag überzogen, welche mit physiologischer Kochsalzlösung zu einer dichten Aufschwemmung abgeschüttelt wurde. Sie wurde dann während 3 Stunden in ein Wasserbad bei  $56^{\circ}\text{C}$  gestellt, nach welcher Zeit die Keime abgetötet waren. Endlich wurde die Flüssigkeit nach Hinzufügung von  $\frac{1}{2}$  Proz. Phenol in dem Schüttelapparat während 24 Stunden geschüttelt, wonach eine fein verteilte, grauweiße Bakteriensuspension erhalten wurde. Dieser Impfstoff ist subkutan und intravenös verwendet worden. Die subkutane Verwendung hatte eine lokale Reaktion (eine sich in die Fläche ausdehnende Infiltration) zur Folge, welche nach 8–10 Tagen verschwunden war. Eine leichte Steigerung der Körpertemperatur war ebenfalls am Tage nach der Einspritzung wahrzunehmen. Die intravenöse Applikation gab eine vorübergehende Steigerung der Körpertemperatur und verringerten Appetit. Die Injektionen haben folgendermaßen stattgefunden:

13. Okt. 1912 subkutan 5 ccm Impfstoff

20. " 1912 " 10 " "

27. " 1912 intravenös 2 " "

4. Nov. 1912 subkutan 1 " lebender Kulturaufschwemmung.

Am 10. Nov. zeigte das Blut einen Agglutinationstiter von weit über 1:3000. .

Am 18. Dez., also etwa 6 Wochen nach der Vorbehandlung, bekam die Stute intravenös 1 ccm lebender Kulturaufschwemmung; 12 Tage später, am 1. Jan. 1913, folgte Abortus, also nach 7-monatiger Trächtigkeit.

Der Verlauf und der Sektionsbefund bei Fohlen war weiter völlig den früher beschriebenen gleich und das Verwerfen fand ohne irgend welche Komplikation statt. Die Vorbehandlung mit getöteter und lebender Kultur hatte also 6 Wochen nachher keine Immunität verursacht. Jedenfalls war sie nicht imstande, der energischen intravenösen Infektion Widerstand zu leisten, weil letztere in 12 Tagen prompt den Abortus hervorrief.

Ähnliche Versuche wurden später bei 3 weiteren trächtigen Stuten angestellt, mit dem Unterschied, daß die Infektion nach der versuchten Immunisierung und bei einer Kontrollstute schon bei weit fortgeschrittener

Trächtigkeit und gegen Ende derselben geschah. Diese Versuche fanden in folgender Weise statt:

Drei Stuten, I, II und III, welche 8,  $8\frac{1}{2}$  und 9 Monate trächtig waren, wurde mit dem vorhin erwähnten Paratyphus B-Abortus-Impfstoff (p. 52) subkutan injiziert. Eins von diesen Tieren (No. I) wurde außerdem mit 5 ccm lebender Kulturaufschwemmung subkutan eingespritzt. Nach dieser Vaccination wurde 6 Wochen gewartet und dann 1 ccm lebender Kulturaufschwemmung intravenös injiziert. Eine nicht vorbehandelte Stute IV, 9 Monate trächtig, diente bei diesem Versuch zur Kontrolle. Noch sei hier erwähnt, daß bei Stute III versucht worden ist, die nach der Impfstoffapplikation entstandenen Infiltrationen durch subkutane Anwendung eines bei einer präparierten Stute (p. 57) gewonnenen Serums zu beeinflussen. Der Erfolg von dieser Serumapplikation ist aber negativ gewesen.

#### Stute I.

25. Jan. 1913.  $8\frac{1}{2}$  Monate trächtig. Agglutinationstiter vor der Behandlung 1:300.

31. Jan. Subkutan 10 ccm Impfstoff. Höchste Körpertemperatur am 1. Febr.  $38,1^{\circ}$  C. Nach 2 Tagen ausgedehnte Infiltration der Injektionsstelle, welche nach einiger Zeit fluktuiert.

7. Febr. Subkutan 20 ccm Impfstoff. Höchste Körpertemperatur am 8. Febr.  $39,1^{\circ}$  C. Ausgedehnte Infiltration der Injektionsstelle. Nach einigen Tagen Fluktuation. Am 11. Febr. Agglutinationstiter 1:2000.

14. Febr. Subkutan 5 ccm lebender Kulturaufschwemmung. Höchste Körpertemperatur am 15. Febr.  $39^{\circ}$  C. Nach 2 Tagen Infiltration, nach 4 Tagen Fluktuation und nach 6 Tagen Entleerung eines eiterigen Inhalts. Am 1. April Agglutinationstiter 1:1200. Keine Krankheitserscheinungen.

6. April. Kein Futter verabreicht.

7. April. Intravaginale Injektion von 100 ccm lebender Kulturaufschwemmung (Stamm I) und Verabreichung von 56 ccm Kulturaufschwemmung (Stamm I) mit dem Hafer. Die ganze Menge Kultur gefressen.

26. April. Intravenös 1 ccm lebender Kulturaufschwemmung (Stamm III). (Stamm III 21. Jan. 1913 aus einem abortierten Fohlen in Tholen gezüchtet.)

2. Mai. Die Stute erkrankt; liegt viel.

3. Mai. Die Stute ist nicht mehr imstande zu stehen.

5. Mai abends. Die Stute getötet und aus dem Uterus ein lebendes, aber schwaches Fohlen entfernt. Das Fohlen starb am folgenden Tag. Es gelang nicht, die eingebrachten Paratyphus-Abortusbacillen aus dem Fohlen und seinen Hüllen zu züchten.

#### Stute II.

10. Febr. 1913.  $8\frac{1}{2}$  Monate trächtig.

15. Febr. Subkutan 10 ccm Impfstoff. Höchste Körpertemperatur am 16. Febr.  $37,9^{\circ}$  C. Infiltration an der Injektionsstelle. Keine Krankheitserscheinungen.

22. Febr. Subkutan 20 ccm Impfstoff. Höchste Körpertemperatur am Abend des 22. Febr.  $39^{\circ}$  C. Ausgedehnte Infiltration. Am 1. April Agglutinationstiter 1:2500.

6. April. Kein Futter verabreicht.

7. April. Intravaginale Injektion von 100 ccm lebender Kulturaufschwemmung (Stamm I) und Verabreichung von 56 ccm Kulturaufschwemmung mit dem Hafer (Stamm I). Die ganze Menge der Kultur gefressen. Die Bakterienflüssigkeit wurde bald aus der Vagina gepreßt. Höchste Körpertemperatur am 9. April; kein Appetit. 11. April wieder munter; 23. April das rechte Hinterbein schmerzhaft. Die Stute ist nicht imstande, sich auf das kranke Bein zu stützen.

26. April. Intravenös 1 ccm lebender Kulturaufschwemmung (Stamm III). Höchste Körpertemperatur am Abend des 26. April  $39,8^{\circ}$  C.

28. April. Gebiert eine tote, ausgetragene Frucht. Die Lungen der Frucht waren teilweise mit Luft gefüllt. Das Fohlen hatte also geatmet, und ist wahrscheinlich während der Geburt verendet. Die Stute zeigt keine Krankheitserscheinungen. Es gelang nicht, aus der Frucht und ihren Hüllen die eingebrachten Bacillen zu züchten.

10. Juni. Agglutinationstiter (auf Stamm I) 1:12000.

## Stute III.

10. Febr. 1913. 9 Monate trächtig.  
 15. Febr. Subkutan 13 ccm Impfstoff. Ausgedehnte Infiltration an der Injektionsstelle. Höchste Körpertemperatur am 16. Febr. 38,6° C.  
 17. Febr. Subkutan 50 ccm Serum (präparierte Stute, s. p. 57). Die Infiltration wird nicht kleiner.  
 19. Febr. Subkutan 50 ccm Serum.  
 22. Febr. Subkutan 20 ccm Impfstoff. Infiltration, nach einigen Tagen Fluktuation und Entleerung des eiterigen Inhalts. Höchste Körpertemperatur am 23. Febr. 39,2° C. Am 1. April Agglutinationstiter 1:1400.  
 6. April. Kein Futter verabreicht.  
 7. April. Intravaginale Injektion von 100 ccm lebender Kulturaufschwemmung (Stamm I) und Verabreichung mit dem Futter von 56 ccm Kultur (Stamm I). Die intravaginale Kulturflüssigkeit wird bald nach außen gepreßt. Höchste Körpertemperatur am 8. April 38,3° C.  
 9. April. Gesundes Fohlen geboren. In den Hüllen waren die eingebrachten Bacillen nicht zu finden. Am 11. April zeigte das Fohlen eine vorübergehende schmerzhaftes Kronengelenkentzündung des rechten Hinterbeins. Am 28. Mai war das rechte Kniegelenk schmerzhaft und angeschwollen. Dieses blieb der Fall bis zum 10. Juni; dann wurden aus dem Gelenk Kulturen angelegt, welche nach 2 Tagen Reinkulturen des Paratyphusbacillus zeigten. Das Gelenk ist später allmählich geheilt.  
 Die Mutter blieb gesund. Die Agglutination war wie folgt: 26. Mai über 1:2400, 10. Juni 1:1200, 1. Juli 1:600.

## Kontrollstute IV.

- Am 1. April 9 Monate trächtig. Agglutinationstiter 1:100.  
 6. April. Kein Futter verabreicht.  
 7. April. Intravaginale Injektion von 100 ccm lebender Kulturaufschwemmung (Stamm I) und Verabreichung von 56 ccm Kultur mit dem Hafer (Stamm I). Die intravaginale Kulturflüssigkeit bald nach außen gepreßt. Höchste Körpertemperatur am 8. April 38,4° C.  
 26. April. Intravenös 1 ccm lebender Kulturaufschwemmung (Stamm III). Höchste Körpertemperatur am Abend des 26. April 39,4° C.  
 14. Mai. Gesundes Fohlen geboren. In den Hüllen waren die eingebrachten Bacillen nicht zu finden.  
 26. Mai. Agglutinationstiter (Stamm I) 1:600.  
 10. Juni. " (Stamm I) 1:600.  
 1. Juli. " (Stamm I) 1:200.

Es ist nicht sofort deutlich, welche Schlußfolgerungen aus den bei den Stuten I, II, III und IV angestellten Versuchen zu ziehen sind. Zuerst wäre es möglich, daß der Abortus in späteren Stadien der Trächtigkeit schwer herbeizuführen ist. Obwohl vielleicht damit zu rechnen ist, so findet dieses Vermuten doch keine Stütze in den früher erwähnten Versuchen, wobei das Verwerfen im 10. resp. 9. Monat stattfindet.

Betrachten wir erst die Kontrollstute IV, dann sehen wir, daß nach der Infektion am 7. April per os und per vaginam keine Krankheitserscheinungen und kein Abortus folgten. 19 Tage später wurde intravenös infiziert; jetzt erfolgte am Abend Temperatursteigerung, aber Verwerfen blieb aus. Man würde dazu hinneigen, in diesem Falle auf nicht gelungene Infektion bzw. Abwesenheit von Virulenz zu schließen, wäre nicht der Agglutinationstiter des Blutes von 1:100 bis 1:600 gestiegen. Dieser letzte Titer war vorhanden am 26. Mai, also 12 Tage nach der Geburt des Fohlens, war also vielleicht früher etwas höher gewesen. Am 10. Juni war er noch immer 1:600; am 1. Juli 1:200, war also im Begriff, zum Ausgangspunkt zurückzukehren.

Dieser harmlose Verlauf der beiden Infektionen, der gegen frühere Resultate absticht, ist ziemlich leicht zu erklären durch eine erste schwache Infektion mittels der vaginalen Anwendung und der Fütterung mit Stamm I. Dieser Stamm war also, mit der früheren Wirkung verglichen, weniger

virulent geworden. Diese Tatsache hatte sich auch durch andere Versuche herausgestellt. Der verwendete Stamm I war nämlich, wenn er während einiger Zeit auf künstlichen Nährböden gezüchtet wurde, erheblich in seiner Virulenz für kleine Versuchstiere geschwächt, und konnte erst durch Passagen wieder in höherem Grade virulent gemacht werden. Wird bei Stute IV die immunisierende Wirkung durch die vaginale Einspritzung und die Fütterung angenommen, dann ist auch das Ausbleiben des Abortus nach der intravenösen Infektion durch ein schwächeres Virus zu erklären.

Es fragt sich jetzt, ob diese Auffassung mit den Resultaten der anderen Versuche im Einklang ist.

Stute III hat erst die Einspritzung des Impfstoffes und überdies jene vom Serum bekommen, wodurch am 22. Febr. ein Agglutinationstiter von 1:1400 erreicht wurde. Darauf folgte am 7. April die Infektion per os und per vaginam mit Stamm I, aber schon 2 Tage später folgte die Geburt eines augenscheinlich gesunden Fohlens, welches jedoch schwächlich war, ein Gelenkleiden hatte, während am 12. Juni aus dem Kniegelenk der Abortus-Paratyphus B-Bacillus wieder gezüchtet wurde. Infektion, und zwar keine unschuldige, hatte also stattgefunden, und wenn der Stamm I, wie oben gesagt, an Virulenz eingebüßt hatte, so war also die vorhergegangene Immunisierung, wobei selbst Immunsorum verwendet wurde, nicht genügend gewesen, die Infektion ohne merkbare Wirkung zu lassen. Daß wirklich eine Infektion stattgefunden hatte, ist auch weiter aus den Agglutinationszahlen zu folgern, nämlich am 26. Mai über 1:2400, am 10. Juni 1:1200, am 1. Juli 1:600. Wie bei Stute IV ist also Infektion durch vaginale Injektion und Fütterung anzunehmen und eine zweifelhafte Immunität durch die vorhergegangene Immunisierung.

Bei Stute II hat die Anwendung des Impfstoffes am 1. April einen Agglutinationstiter von 1:2500 entstehen lassen. Die Infektion am 7. April gab Krankheitserscheinungen ohne Abortus, und die nachfolgende intravenöse Infektion am 26. April gab sie aufs neue. Am 28. April wurde ein totes, ausgetragenes Fohlen, welches geatmet hatte, zur Welt gebracht. Aus dem Fohlen und aus den Hüllen waren die Bacillen nicht zu züchten, was darauf hinweist, daß das Blut der Mutter und der Frucht nicht mit Bacillen überfüllt war, jedoch nicht sicher beweist, daß sie nicht anwesend waren. Daß Infektion stattgefunden hat, ist aus den Agglutinationszahlen zu folgern. Am 10. Juni war der Titer 1:12000, am 1. Juli 1:4000. Die Schwierigkeit ist nur, zu erfahren, ob beide Infektionen Erfolge hatten, oder nur eine. Am 28. April wurde ein totes Fohlen gebracht, welches jedoch geatmet hatte. Hier kann nur die Injektion am 26. April den Tod herbeigeführt haben. Also hatte in diesem Fall die vorangegangene intravaginale Einspritzung und Fütterung am 7. April nicht immunisiert, wovon die Möglichkeit bei Stute IV angenommen wurde. Weiter ist der Verlauf der Infektion per os und per vaginam heftiger gewesen als bei Stute III, und doch folgte kein Abortus. Möglich ist es, daß dies teilweise der Immunität durch die Vaccination zuzuschreiben ist.

Diese Auffassung entspricht wohl dem Verlaufe bei Stute I. Nach der vorbereitenden Impfung nach der Infektion per os und per vaginam geschieht nichts, nach der intravenösen Infektion wird die Stute schwer krank und das lebend extrahierte Fohlen ist schwächlich. Also auch hier die Wirkung der intravenösen Infektion und keine Immunisierung.



Also ist aus den Versuchen zu folgern, daß die aktive Immunisierung mittels getöteter Bacillen zwar den Agglutinationstiter steigern läßt, jedoch nicht sicher eine gewisse Immunität herbeiführt. Wenn man jedoch bedenkt, daß die Infektion durch die vaginale Einspritzung und die Fütterung doch höchstwahrscheinlich ist, wie aus den Versuchen bei Stute III und IV zu folgern ist, dann muß doch wohl eine immunisierende Wirkung angenommen werden, auch wenn der Bacillus in seiner Virulenz herabgesetzt war.

Jedoch ist auch zu folgern, daß die vaginale und Fütterungsinfektion auch für sich immunisieren kann, wie aus den Verhältnissen bei Stute IV geschlossen wurde. Und dann wird wohl die Fütterungsinfektion die wirksamere sein, wie aus dem Versuche bei Stute B hervorgeht. Jetzt ist daran zu erinnern an den eigentümlichen Infektionsversuch bei Stute A. In diesem Falle wurde einmal gefüttert, und 25 Tage später war durch intravenöse Einspritzung einer Dosis, welche sonst Abortus herbeiführte, kein Verwerfen zu erzielen. Erst eine doppelte, 11 Tage später intravenös applizierte Dosis führte Abortus herbei. Es ist wohl deutlich, daß auch hier Immunisierung durch die Fütterung vorgelegen hat.

Nach den Versuchen bei den Stuten I, II und IV und nach dem früher Mitgeteilten ist also bei dem beschriebenen Abortus der Stuten mit folgenden Momenten zu rechnen:

- 1) Ein gewisser Immunitätsgrad ist wahrscheinlich durch Vorbehandlung mit abgetöteten Kulturen zu erzielen.
- 2) Wirkung des Immunserums wurde nicht sicher beobachtet.
- 3) Intravaginale und Fütterungsinfektion, wovon die letztere wohl die am meisten aktive ist, kann eine gewisse Immunität zurücklassen.
- 4) Der wechselnde Virulenzgrad des Bacillus kann wahrscheinlich den abortiven Effekt ändern.

#### 4. Aktive Immunisierung bei Kaninchen.

Bei Kaninchen geht es etwas leichter, durch eine Behandlung mit lebender Kultur eine Immunität herbeizuführen, welche imstande ist, gegen eine sonst tödliche Infektion zu schützen.

Daß diese Immunität ziemlich lange anhält, beweisen folgende Versuche:

Drei Kaninchen wurden nach den Angaben der untenstehenden Tabelle mit Aufschwemmung von Agarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung intravenös immunisiert.

	Kaninchen A	Kaninchen B	Kaninchen C
2. Juli 1912	$\frac{1}{10}$ ccm	$\frac{8}{10}$ ccm	$\frac{6}{10}$ ccm
9. " "	$\frac{8}{10}$ "	$\frac{6}{10}$ "	1 "
16. " "	1 "	1 "	$1\frac{1}{2}$ "
23. " "	2 "	2 "	$2\frac{1}{2}$ "
30. " "	3 "	3 "	$3\frac{1}{2}$ "
7. Aug. "		4 "	$4\frac{1}{2}$ "

Am 2. Febr. 1913, also  $\frac{1}{2}$  Jahr nach der Immunisierung, bekam jedes Kaninchen intravenös 1 ccm einer Kulturaufschwemmung, welche in der Menge von  $\frac{3}{4}$  ccm intravenös tödlich war.

Zur Kontrolle dienten 4 andere Kaninchen, welche dieselbe Menge Kultur erhielten.

Das Resultat war, daß 2 der immunisierten Kaninchen nicht erkrankten, während die anderen Tiere alle verendeten.

Zwei Kaninchen waren also immun geworden.

### 5. Simultanimpfung bei Kaninchen.

Diese Versuche wurden angestellt, um zu untersuchen, ob das Blut von Tieren, welche infiziert worden sind, Schutzsubstanzen enthält. Wie erwähnt, ist aus den Erfahrungen in der Praxis nicht sicher auf eine gewisse Immunität nach überstandener Krankheit zu schließen. Wären Schutzsubstanzen im Blute anwesend, dann könnten sie vielleicht durch künstliche nachherige Infektionen zu vermehren sein. Darum wurde beschlossen, eine Versuchsstute, welche am 11. März 1912 abortiert hatte, eventuell höher zu immunisieren. Am 4. Mai 1912 hatte das Serum dieser Stute einen Agglutinationstiter von über 1:1000, und die erhöhte Agglutination erregte die Hoffnung, daß auch andere Antistoffe auftreten könnten.

Anfänglich wurden nur sehr kleine Bakterienmengen intravenös injiziert und die Einspritzungen jede Woche in steigender Dosis wiederholt:

Nachfolgende Tabelle gibt eine Uebersicht über die angewandte Methode:

4. Mai 1912 intravenös			$\frac{1}{10}$ ccm	Bakterienaufschwemmung
11.	"	"	$\frac{1}{2}$	"
17.	"	"	1	"
24.	"	"	3	"
7. Juni	"	"	4	"
15.	"	"	5	"
22.	"	"	6	"
29.	"	"	7	"
6. Juli	"	"	10	"
13.	"	"	12	"
20.	"	"	14	"
27.	"	"	15	"
4. Aug.	"	"	15	"
11.	"	"	15	"
18.	"	"	25	"

Am 20. Aug. 1912 zeigte das Serum dieser Stute einen Agglutinationstiter von über 1:10000; es wurde daher beschlossen, das Serum bei Kaninchen auf seine schützende Kraft zu prüfen, und zu versuchen, damit gegen tödliche Infektion zu schützen. Durch wiederholte Kaninchenpassage war es gelungen, eine Kultur zu bekommen, welche konstant in der Menge von  $\frac{3}{4}$  ccm Aufschwemmung Kaninchen bei intravenöser Einspritzung in 2—4 Tagen tötete.

Die Versuche sind in 3 Gruppen zu verteilen.

In die erste Gruppe fallen die Versuche, wobei das Serum und die Kultur hintereinander in die Vena auricularis posterior injiziert wurden.

In der zweiten Gruppe ist das Serum 24 Stunden vor der Kultur injiziert worden, und in der dritten Gruppe haben die Kaninchen eine Mischung von Kultur + Serum erhalten.

#### Gruppe I.

Am 20. Aug. 1912 wurde 8 Kaninchen von einem Durchschnittsgewicht von 2250 g in die Vena auricularis posterior sinistra 1 ccm Bakterienflüssigkeit injiziert, während 4 von ihnen dabei noch 3—5—5 und 5 ccm Serum in die rechte Ohrvene bekamen. Am 24. Aug. waren die Kontrollkaninchen alle verendet. Die Serumkaninchen waren sehr krank.

Am 25. Aug. starben 3 Serumkaninchen, nämlich diejenigen, welche 5—5 und 5 ccm Serum erhalten hatten. Das Kaninchen, dem 3 ccm Serum injiziert war, ist bei diesem Versuch nicht verendet. Das Resultat war also, daß die Kontrollkaninchen früher starben als die Serum-

kaninchen, während 1 Serumkaninchen sogar die Injektion überstanden hat. Da bei diesem Versuche die Kaninchen, welche 5 ccm Serum erhielten, eher starben als dasjenige, welches nur 3 ccm Serum bekam, so könnte an eine ablenkende Wirkung durch Uebermaß des Ambozeptors gedacht werden, und wäre vielleicht eine geringere Dosis Serum besser gewesen.

Am 31. Aug. bekamen 5 Kaninchen intravenös je 1 ccm Bakterienflüssigkeit, während 4 andere Kaninchen in die rechte Ohrvene 1 ccm Kultur und in die linke  $2\frac{1}{2}$ —3—3 und 5 ccm Serum injiziert wurde.

Am 3. Sept. waren 4 Serumkaninchen und 4 Kontrollkaninchen verwendet. Ein Kontrollkaninchen ist am Leben geblieben.

Die Resultate waren also vollkommen negativ, da die Serumtiere noch früher als die Kontrollkaninchen verendeten.

#### Gruppe II.

Am 3. Sept. wurden 4 Kaninchen 3—3—4 und 5 ccm Serum intravenös (linke Ohrvene) injiziert. Am 4. Sept. bekamen diese Tiere in die rechte Ohrvene 1 ccm Bakterienaufschwemmung.

Wiederum wurden 4 Kaninchen, welche je 1 ccm Kultur erhielten, zur Kontrolle eingespritzt.

Am 7. Sept. waren die Serumkaninchen verendet, während 2 Kontrollkaninchen noch am Leben waren. Diese 2 Tiere starben in der Nacht vom 7. auf den 8. Sept.

Das Resultat der Versuche war also negativ, da die Serumkaninchen zuerst gestorben waren.

#### Gruppe III.

Am 17. Sept. 1912 wurden 4 Kaninchen mit einem Gemisch von 1 ccm Bakterienaufschwemmung resp. 3—4—5 und 5 ccm Serum intravenös injiziert. 4 nur mit Kultur injizierte Kaninchen dienten zur Kontrolle.

Am 9. Sept. starben 2 Serum- und 2 Kontrollkaninchen. Die anderen Tiere verendeten im Verlaufe des 3. und 4. Tages. Auch bei diesem Versuche war gar keine schützende Kraft des Serums wahrzunehmen.

Das Gesamtergebnis dieser Versuche ist also negativ gewesen.

#### 6. Bakterizider Reagensglasversuch.

Bekanntlich besteht das Prinzip dieses Versuches darin, daß man die betreffenden Bakterien (in unserem Falle die Paratyphus B-Abortusbacillen) einige Stunden bei  $37^{\circ}$  C mit dem Serum zusammenbringt, und dann das Bakterien-Serumgemisch mittels Kulturplatten auf Bakteriengehalt untersucht.

Sind spezifische bakterizide Substanzen im Serum anwesend, dann werden die Bakterien abgetötet und es bleiben die Nährböden mehr oder weniger steril.

Sind keine derartigen Substanzen da, so erleiden die Bakterien keinen Nachteil und wachsen zu Kolonien aus. Der bakterizide Reagensglasversuch wird derartig angestellt, daß in einer Reihe von sterilen Reagensgläsern zu gleichen Mischungen von Bakterienaufschwemmung und frischem, komplementhaltigem Normalserum fallende Mengen des zu prüfenden Serums zugesetzt und gleichmäßig vermischt werden. Nachdem die Röhrchen 3 Stunden im Brutschrank bei  $37^{\circ}$  C verweilt haben, wird ihr Inhalt zu Agarplatten verarbeitet. Zweckmäßig wird dabei zunächst der Inhalt der Röhrchen in je eine frisch sterilisierte Petri-Schale ausgegossen und in dieser mit geringen Mengen Agars von  $45^{\circ}$  C

durch mehrfaches Schwenken so vermischt, daß er gleichmäßig in der ganzen Platte verteilt ist. Ist Erstarrung eingetreten, so wird eine dünne Schicht sterilen Agars darüber gegossen, damit später nicht durch ein Oberflächenwachstum die Beurteilung erschwert wird. Nach 12 bis 18-stündiger Bebrütung der fertigen Platten wird eine Zählung bzw. genauere Schätzung der ausgewachsenen Kolonien vorgenommen und auf diese Weise festgestellt, bis zu welchen Verdünnungen hin das Immunserum eine auffallende Verminderung der eingebrachten Keime bewirkt hat. Die letztere wird aus Kontrollplatten zu ersehen sein. Sämtliche Röhrchen enthalten die gleichen Flüssigkeitsmengen (2 ccm). Die Verdünnungen des Immun- und ebenso des Normalserums werden mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt.

Als Bakterienaufschwemmung dient eine 5000-fache, mit Bouillon hergestellte Verdünnung einer 24-stündigen Bouillonkultur der betreffenden Bakterienart. Weiter ist peinlich steriles Arbeiten unbedingt erforderlich:

Röhrchen	Inhalt	Wann zu Platten gegossen	Zahl der Kolonien
1	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenserum 1:10 + 1 ccm Serum der präparierten Stute, Verdünnung 1:10	Nach 3 Stunden	unzählbar
2	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenserum 1:10 + 1 ccm Serum der präparierten Stute, Verdünnung 1:20		"
3	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenserum 1:10 + 1 ccm Serum der präparierten Stute, Verdünnung 1:50		"
4	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenserum 1:10 + 1 ccm Serum der präparierten Stute, Verdünnung 1:100		"
5	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenserum 1:10 + 1 ccm Serum der präparierten Stute, Verdünnung 1:200		"
6	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenserum 1:10 + 1 ccm Serum der präparierten Stute, Verdünnung 1:500		"
7	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenserum 1:10 + 1 ccm Serum der präparierten Stute, Verdünnung 1:1000		"
8	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenserum 1:10 + 1 ccm Serum der präparierten Stute, Verdünnung 1:2000		"
9	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenserum 1:10 + 1 ccm Serum der präparierten Stute, Verdünnung 1:5000		"
10	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenserum 1:10 + 1 ccm Serum der präparierten Stute, Verdünnung 1:10000		"
Kontrolle 1	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $1\frac{1}{2}$ ccm physiologische Kochsalzlösung	sofort	ca. 10 000
2	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + $1\frac{1}{2}$ ccm physiologische Kochsalzlösung	nach 3 St.	unzählbar
3	$\frac{1}{2}$ ccm Bakterienaufschwemmung + 1 ccm physiologische Kochsalzlösung + $\frac{1}{2}$ ccm normales Kaninchenser. 1:10	nach 3 St.	"

Am 15. Sept. war zum Versuch vorhanden:

1) Eine 5000-fache, mit Bouillon hergestellte Bouillonkultur von Paratyphus B-Abortusbacillen.

2) Steriles Stutenserum (präparierte Versuchsstute (p. 57).

3) Steriles Normalkaninchenserum.

Die Versuchsanstellung ist aus vorstehender Tabelle zu ersehen.

Weil in allen Platten die Paratyphus B-Abortuskolonien in zahlloser Menge gewachsen waren, läßt sich daraus schließen, daß die Bakterien nicht durch das Serum beeinträchtigt worden sind und daß sich keine bakteriziden Substanzen im Serum vorfinden. Ein Kontrollversuch mit normalem Pferdeserum war in diesem Falle überflüssig. Das erhaltene Resultat steht also im Einklang mit den negativen Erfolgen, welche wir mit dem Serum bei Kaninchen erhielten.

#### 7. Komplementbindungsversuch.

Bei diesem Versuche habe ich die Technik benutzt, welche Halfdan Holth in der Zeitschrift f. Infektionskrankh. Bd. II. 1911. H. 4 angegeben hat, und die von der gewöhnlich angewandten Methode darin abweicht, daß bei dem hämolytischen System statt 1 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung von roten Blutkörperchen nur 0,5 ccm einer 1-proz. Aufschwemmung benutzt wird. Die Blutkörperaufschwemmung wird im übrigen in gewöhnlicher Weise hergestellt, indem das defibrinierte Blut zentrifugiert und der dadurch entstandene Bodensatz mit steriler physiologischer Kochsalzlösung 2- bis 3mal ausgewaschen wird.

Als hämolytisches System habe ich Schafblut benutzt mit entsprechendem Hämolsin. Letzteres, welches bei der Behandlung von Kaninchen mit gewaschenen Blutkörpern gewonnen wurde, zeigte einen Titer über 1:2000. Bei dem Hauptversuche habe ich 0,2 ccm hämolytischen Kaninchensersums angewendet, welche Menge mehr als  $2\frac{1}{2}$ mal dem Titer entsprach. Als Komplement ist frisches Meerschweinchenserum benutzt worden. Als Antigen wurde ein Paratyphus B-Abortusbacillusextrakt verwendet, welcher folgendermaßen bereitet wurde: Gut gewachsene Schrägagarkulturen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung so lange geschüttelt, bis eine dichte Bakterienaufschwemmung entstand. Nach Hinzufügung von 0,5-proz. Phenol wurde diese Aufschwemmung 48 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt und nachher zentrifugiert. Die klare, gelbliche, obenstehende Flüssigkeit wurde als Antigen benutzt.

Als Kochsalzlösung habe ich eine 0,85-proz. verwendet, da ich damit bei den Schafblutkörpern die schönsten Resultate erhielt.

Bevor der eigentliche Bindungsversuch angestellt wurde, ist das Antigen auf seine komplementbindenden Eigenschaften untersucht worden. Es zeigte sich, daß Dosen von  $\frac{1}{20}$  ccm Antigen noch imstande waren, die benutzte Komplementmenge (0,09 ccm frisches Meerschweinchenserum  $1:4 = 1\frac{1}{2}$  Titer) zu binden.

Neben dem Hauptversuche sind durch eine Reihe Kontrollröhrchen folgende Tatsachen festgestellt worden:

- 1) Die Wirksamkeit des hämolytischen Systems mit Komplement,
- 2) das Ausbleiben der Hämolyse im hämolytischen System bei Fortlassung des Komplements,
- 3) das Ausbleiben der Hämolyse im Gesamtversuch bei Fortlassung des Komplements,
- 4) das Ausbleiben der Hämolyse im Gesamtversuch bei Fortlassung des Hämolsins,

- 5) daß das zur Untersuchung kommende Serum allein, selbst in den größten verwandten Mengen, nicht komplementbindend war,  
6) daß die benutzte Menge Antigen nicht komplementbindend war,  
7) daß das Antigen an und für sich nicht imstande war, Hämolyse zu bewirken,  
8) daß das Antigen + inaktiviertes normales Pferdeserum kein Komplement band.

Nachfolgende Tabelle gibt eine Uebersicht über die ausgeführte Komplementbindungsuntersuchung und die angestellten Kontrollen:

Antigen- Paratyphus B- Abortusbacillen- extrakt	Serum der prä- parierten Stute (p. 57)	Komplement (verd. Meer- schweinchen- serum 1:4)	Verdünntes Hämolyse in, Kaninchenserum 1-proz.	1-proz. Blutkörper- aufschwemmung	0,85-proz. Koch- salzlösung	Grad der Hämolyse Proz.	
0,5		0,09	0,2	0,5	1,5	0	Titer des Anti- gens = 0,025, Dosis des An- tigens = 0,025
0,4		0,09	0,2	0,5	1,5	0	
0,3		0,09	0,2	0,5	1,5	0	
0,2		0,09	0,2	0,5	1,5	0	
0,1		0,09	0,2	0,5	1,5	0	
0,05		0,09	0,2	0,5	1,5	75	
0,025		0,09	0,2	0,5	1,5	100	
0,01		0,09	0,2	0,5	1,5	100	
Hauptversuch							
0,025	0,3	0,09	0,2	0,5	1,5	100	Vollständige Hämolyse; kein Kom- plement ge- bunden
0,025	0,2	0,09	0,2	0,5	1,5	100	
0,025	0,1	0,09	0,2	0,5	1,5	100	
0,025	0,05	0,09	0,2	0,5	1,5	100	
0,025	0,025	0,09	0,2	0,5	1,5	100	
Kontrollen							
0,025 Koch- salzlösung	0,4 Koch- salzlösung	0,09	0,2	0,5	1,5	100	
0,025 Koch- salzlösung	0,4 Koch- salzlösung	0,09 Koch- salzlösung	0,2	0,5	1,5	0	
0,025 Antig.	0,4 Serum der präpar. Stute	0,09 Koch- salzlösung	0,2	0,5	1,5	0	
0,025 „	0,4 Serum der präpar. Stute	0,09 Kom- plement	0,2 Koch- salzlösung	0,5	1,5	0	
0,025 Koch- salzlösung	0,4 Serum der präpar. Stute	0,09 Kom- plement	0,2 Hämolyse	0,5	1,5	100	
0,025 Antig.	0,4 Koch- salzlösung	0,09 Kom- plement	0,2 Hämolyse	0,5	1,5	100	
0,025 „	0,4 Koch- salzlösung	0,09 Koch- salzlösung	0,2 Koch- salzlösung	0,5	1,5	0	
0,025 „	0,4 inaktiv. norm. Pferde- serum	0,09 Kom- plement	0,2 Hämolyse	0,5	1,5	100	

Es zeigte sich also, daß in allen Röhren des Komplementbindungsversuches vollständige Hämolyse auftrat. Da alle angestellten Kontrollröhren stimmten, so folgte daraus, daß das untersuchte Serum nicht imstande war, das Komplement zu binden und daß also keine Ambozeptoren dritter Ordnung im Serum anwesend waren. Ein ähnlicher Komplementbindungsversuch ist mit dem Serum einer Stute, welche

einige Tage vorher abortiert hatte, angestellt worden. Auch bei diesem Versuche war das Resultat, daß keine komplementbindenden Substanzen im Serum konstatiert wurden.

Es sei noch erwähnt, daß in beiden Fällen ein Kontrollkomplementbindungsversuch angestellt wurde, wobei mit einer 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung gearbeitet wurde und mit welchem dieselben Resultate erhalten wurden.

### 1) Bakteriologische Eigenschaften.

Wie früher erwähnt, züchteten Smith und Kilborne aus dem Vaginalschleim von Stuten, welche abortiert hatten, einen Bacillus, der nach ihren Angaben sehr große Aehnlichkeit mit dem Bacillus suispestifer zeigte.

Sie hielten es für sehr wahrscheinlich, daß dieser Bacillus den Abortus herbeigeführt hatte. Es gelang ihnen aber nicht, den unmittelbaren Beweis dafür zu liefern.

Da der von uns untersuchte Paratyphus B-Abortusbacillus sehr große Aehnlichkeit mit dem von Smith und Kilborne zeigte, so werde ich die morphologischen und kulturellen Angaben von Theobald Smith vorangehen lassen, um die Vergleichung zwischen beiden Mikroorganismen zu erleichtern.

Smith (1) sagt wörtlich:

„On gelatine plates or in rolls colonies of these bacilli become distinctly visible to the naked eye about thirty-six to forty-eight hours after sowing.

When magnified the deep colonies appear as round, finely granular, brownish disks, which may show later on a more or less distinct peripheral, paler zone. Their size depends on the number of colonies. When about 1 cm apart they reach a diameter of 0.5 mm. The surface colonies are roundish, slightly convex, whitish, glistening disks with margin slightly wavy or delicately notched. When magnified they show a faintly stippled surface. They become not more than 1 to 1.5 mm in diameter.

On agar plates the colonies are quite large twenty-four hours after sowing when kept in the thermostat. The deep ones are round or lenticular, opaque with finely knobbed periphery, and 1 mm in diameter. The surface colonies are flattish, barely translucent, grayish-white disks. When magnified, finely granular in appearance. They may attain a diameter of 4 to 8 mm when one to two centimeters apart.

Occasionally the deep colonies may become nearly 2 mm in diameter and the surface colonies now and then spread out so as to attain a diameter of 1 to 2 cm. They then have a smooth, shining, mucus-like appearance as if the growth had flowed over the surface. In some gas bubbles appear, and occasionally some spread out between the agar layer and the glass beneath.

In tubes of inclined agar, the growth of the isolated colonies is the same as that described for the plates. When confluent a grayish smooth growth is the result. The condensation water becomes turbid.

In tubes of gelatine, the track of the wire appears after two or three days as a thin yellowish-white line, which increases but little growth beyond the point of inoculation.

On the cut surface of boiled potatoes in plugged tubes well supplied with water in the bottom, growth takes place. The potato becomes covered with a straw-colored growth, the abundance of which depends upon the state of the surface as regards moisture or dryness as well as on the nature of the potato.

In peptone bouillon kept in the thermostat there is at first simple cloudiness within twenty-four hours of inoculation. After some days the liquid becomes more turbid, and a thin cohesive pellicle forms on the surface when the culture tube remains undisturbed.

In milk at 37° C, no change takes place which is visible to the naked eye, even after several weeks' sojourn in the thermostat. Subsequent boiling gives a slightly brownish, more translucent tint to the milk. The bacilli have the same power as the hog-cholera bacilli of causing fermentation in peptone bouillon to which some glucose has been added. Thus, in bouillon containing 2 per cent glucose, 48 per cent of the volume of the closed branch of the fermentation tube had been occupied by gas in three days. Of this 34 per cent was absorbed by potassium hydrate as CO<sub>2</sub>; the rest

exploded with air (probably hydrogen). In a recent test with somewhat more alkaline glucose bouillon I obtained the following result:

Fermentation tube inoculated December 30, 1892.

December 31; 10 per cent of closed branch occupied by gas.

January 2; 58 per cent of closed branch occupied by gas.

January 4; 58 per cent of closed branch occupied by gas.

In the temperature of the room the gas occupied only 56 per cent of the closed branch. Of this 37 per cent was absorbed by caustic potash; the rest exploded with air. The culture liquid was markedly acid and free from odor. Gas is not set free in saccharose and lactose bouillon.

In reinoculating this bacillus from time to time into fresh tubes of agar the surface growth assumed a more and more pronounced membranous appearance. The agar was covered with a thin, brittle, somewhat wrinkled layer, which extended down over the condensation water. The same change was observed in bouillon in which a thin papery membrane became a prominent feature of later cultures. This may be replaced by other membranes when shaken to the bottom.

The bacillus under consideration is a short bacillus with rounded ends, which stains well in alkaline methylene blue. It is actively motile in bouillon cultures. It moves to and fro in a straight or curved line, frequently twirling about its own middle point as an axis at the same time. When traces of growth from colonies on agar or gelatine are suspended in water or bouillon, this property of motility may escape attention, since only a few move under these conditions, and in some preparations no motile forms were observed."

Ich werde die Eigenschaften des betreffenden Paratyphus Abortus-B-Bacillus in Tholen in derselben Reihe folgen lassen und noch einige hinzufügen. Auf Gelatineplatten wurden die Kolonien erst am 2. Tag für das unbewaffnete Auge sichtbar. Bei schwacher Vergrößerung sehen die tieferen Kolonien wie runde, bräunliche Scheiben aus, welche eine granulirte Oberfläche zeigen. Später kann man eine helle, periphere Zone wahrnehmen. Ihre Größe schwankt nach der Anzahl der ausgewachsenen Keime. Sind die Kolonien ungefähr 1 cm voneinander entfernt, dann erreichen sie einen Diameter von  $\pm 0,5$  mm. Die Kolonien, welche sich an der Oberfläche befinden, sind rund, weißlich und glänzend. Der Rand ist wellenförmig oder unregelmäßig gekerbt. Bei schwacher Vergrößerung zeigen sie eine granulirte Oberfläche. Sie erreichen einen Diameter von 1 und 1,5 mm. Auf Agarplatten wachsen die Kolonien schnell aus und sind nach 24 Stunden schon ziemlich groß. Die in der Tiefe gewachsenen Kolonien sind rund oder oval und haben einen Durchschnitt von  $\pm 1$  mm. Die oberflächlichen Kolonien stellen flache, grauweiße, transparente Scheiben dar mit mehr oder weniger deutlichen konzentrischen Kreisen (Fig. 1). Sie sind 4—5 mm groß und ihre Oberfläche sieht bei schwacher Vergrößerung granuliert aus. Wenn die Kolonien weit voneinander gelagert sind, wachsen sie bis zu einem Diameter von 1 und 2 cm aus.

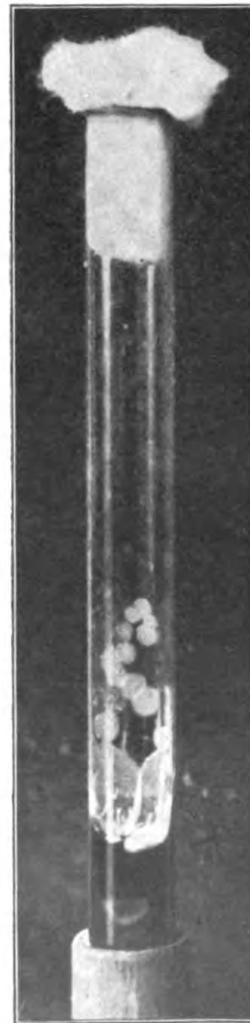


Fig. 1. 4-tägige Kultur auf Schrägagar. Kulturhäutchen über dem klaren Kondenswasser.



Bisweilen bilden sich Gasblasen zwischen Agar und Kulturgefäß. Diese Blasen sind fast immer in Schrägagarkulturen vorhanden. Im Gelatinestich sieht man nach 2 oder 3 Tagen nur einen schwachen Kulturstreifen, während geringes Oberflächenwachstum zu sehen ist.

Auf Kartoffeln bildet sich ein spärlicher hellgelber Belag. Farbe und Wachstum werden von der Kartoffelart beeinflusst.

In Peptonbouillon und Kochscher Peptonlösung tritt eine gleichmäßige Trübung ein, während Häutchenbildung stattfindet. Bei längerem Wachstum sinkt dieses Häutchen auf den Boden und dann bildet sich ein neues, das wiederum heruntersinkt. Dieses Bild ist sehr typisch und wird auch von Theobald Smith beschrieben.

Milch wird nicht koaguliert, aber nach längerem Aufenthalt im Brutschranke ändert sich die Farbe ein wenig. In Gärungsröhrchen mit Peptonlösung + 2 Proz. Traubenzucker findet starke Gasbildung statt, wie auch in Galaktosenährboden. Milchzucker und Rohrzucker werden jedoch nicht unter Gasbildung gespalten. Das Hauptkriterium der Kultur ist aber das sehr charakteristische Wachstum auf Schrägagar. Hierauf bildet sich ein zusammenhängender Belag, welcher auch das Kondenswasser bedeckt (Fig. 2). Letzteres ist ein wenig getrübt, klärt sich aber später unter Bildung eines geringen Bodensatzes ab. Die oben erwähnte Membranbildung ist so typisch, daß man daran sogar die Kultur bestimmen kann. Da der *Bacillus* von Theobald Smith außer den anderen Merkmalen auch diese Eigentümlichkeit zeigte, so ist die Identität von beiden wohl als sicher anzunehmen. Daß der gefundene *Bacillus* in die Paratyphus B-Enteritisgruppe gehört, läßt sich schließen aus den unten noch kurz zusammengefaßten Eigenschaften:

Der *Bacillus* stellt ein bewegliches Stäbchen mit abgerundeten Ecken dar, von der Größe des *Bacillus suipestifer* (1,5—3,0  $\mu$  lang, 0,6  $\mu$  dick). Er besitzt eine große Anzahl (meist 10—12) welliger Geißeln, welche peritrich angeordnet sind.

Den Geißeln verdankt der *Bacillus* eine lebhafteste Beweglichkeit, die allerdings nur bei jungen Kulturen sehr deutlich ist, aber bald nachläßt.

Die gebräuchlichen Anilinfarben nimmt er leicht an: nach der Gramschen Methode wird er entfärbt.

Der *Bacillus* ist ausgesprochen aerob und wächst anärob (Methode Büchner) nur sehr kümmerlich.

Gelatine wird nicht verflüssigt, das Wachstum bietet wenig Charakteristisches.

Bouillon wird diffus getrübt. Häutchenbildung.

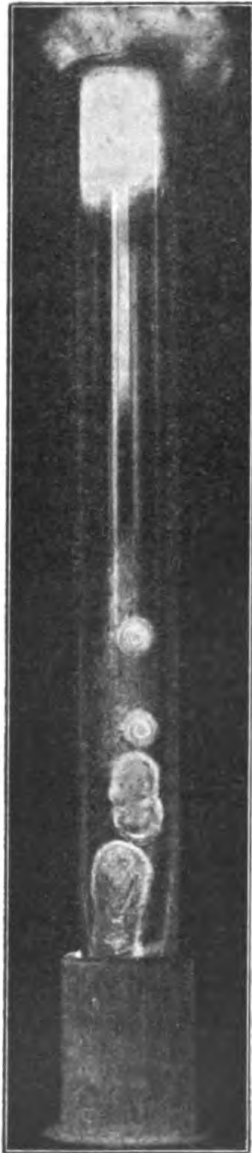


Fig. 2. 14-tägige Kultur auf Schrägagar. Ausgewachsene Kolonien mit konzentrischer Ringbildung.

Auf Lackmusmilchzucker-Agarplatten nach Drigalsky und Conradi wachsen die Bakterien, ohne den Nährboden zu ändern, ähnlich wie der Eberth-Gaffkysche Bacillus. Die Lackmusmolke nach Petruschky wird innerhalb 24 Stunden gerötet. Vom 4. bis 5. Wachstumstage nimmt die Molke unter zunehmender Trübung einen bläulichen Ton an, bis sie unter Aufhellung nach 10—12 Tagen intensiv blau geworden ist.

In Traubenzuckeragar und Traubenzuckerbouillon erfolgt Vergärung.

In Neutralrotagar erfolgt Gasbildung und Fluoreszenz.

Milchzucker und Rohrzucker werden nicht vergoren.

In Milch wird, ohne daß Gerinnung eintritt, nach längerem Wachstum Alkali gebildet, wobei das Substrat gelblich und durchsichtig wird.

Lackmus-Nutrose-Traubenzuckerlösung nach Barsiekow wird koaguliert und die Farbe von Blau in Rot verwandelt.

Lackmus-Nutrose-Mannitlösung nach Barsiekow wird koaguliert und rot gemacht.

Lackmus-Nutrose-Milchzuckerlösung bleibt völlig unverändert.

Malachitgrün-Typhuslösung I nach Löffler (28) wird vergoren.

Malachitgrün-Paratyphuslösung II nach Löffler (28) wird nicht vergoren, aber das helle Grün schließlich in ein blasses Gelb geändert. Außerhalb des Tierkörpers vermag der Paratyphus B-Abortusbacillus sich unter Umständen längere Zeit lebensfähig zu erhalten, besonders wenn er vor Licht und Austrocknung geschützt ist. Gegen hohe Temperaturen ist die Resistenz eine ziemlich große; man muß Kulturaufschwemmungen mindestens während 1 Stunde auf 60° C im Wasserbad erhitzen, um den Mikroorganismus zu töten.

#### m) Pathogenität.

Außer den früher erwähnten, an kleineren Versuchstieren angestellten Versuchen wurden mit dem Stamm I, welcher den Körper einer Versuchsstute passiert hatte, noch weitere Versuche an Mäusen, Meerschweinchen, Kaninchen und Tauben angestellt, deren Ergebnisse in untenstehenden Tabellen zusammengefaßt sind. Nachdrücklich wird hervorgehoben, daß diese Resultate mit Stamm I erhalten wurden, dessen

Tierart	Durchschnittsgewicht	Infektionsmodus	Dosis	
Kaninchen	± 2000 g	intraperitoneal	3 ccm Bouillonkult. 2 Tage alt	gestorben nach 2 Tagen
"	dgl.	"	2 " dgl.	überlebt
"	"	"	1 " "	"
"	"	"	1/2 " "	"
"	"	subkutan	1/4 " "	"
"	"	"	2 " "	gest. nach 5 Tagen
"	"	"	1 " "	überlebt
"	"	"	1/2 " "	"
"	"	"	1/4 " "	"
"	"	intravenös	3 " "	gest. nach 1 Tag
"	"	"	2 " "	" " 2 Tagen
"	"	"	1 " "	" " 6 "
"	"	"	1/2 " "	" " 4 "

Erste Abt. Orig. Bd. 72.

Heft 1/2.

5

Tierart	Durchschnittsgewicht	Infektionsmodus	Dosis	
Meerschweinchen	± 635 g	intraperitoneal	2 ccm	dgl. gest. nach 6 Tagen
"	dgl.	"	1 "	" " 7 "
"	"	"	1/2 "	" " überlebt
"	"	subkutan	5 "	" " gest. nach 3 Tagen
"	"	"	4 "	" " 2 "
"	"	"	2 "	" " überlebt
"	"	"	1 "	" " gest. nach 5 Tagen
"	"	"	1/2 "	" " 3 "
Taube	± 350 g	intramuskulär	3 ccm	dgl. gest. nach 2 Tagen
"	dgl.	"	2 "	" " 3 "
"	"	"	1 "	" " 2 "
"	"	"	1/2 "	" " überlebt
Maus	± 10 g	subkutan	1 ccm	dgl. gest. nach 1 Tag
"	dgl.	"	1/2 "	" " 1 "
"	"	"	1/10 "	" " 6 Tagen
"	"	"	1/10 "	" " 7 "

nicht konstante Pathogenität früher betont wurde. Auch der früher erwähnte Stamm III hat abwechselnde Virulenz gezeigt. Also ist die Pathogenität nicht immer dieselbe.

Aus diesem Versuch geht also hervor, daß Mäuse, Tauben und Meerschweinchen ziemlich empfindlich sind, während Kaninchen der intraperitonealen und subkutanen Infektion einen gewissen Widerstand leisten.

#### n) Vergleichung mit anderen Repräsentanten der Paratyphus B-Enteritisgruppe.

Weil in der letzten Zeit jedesmal Paratyphus B-Enteritisbacillen bei unseren Haustieren gefunden worden sind (29), so habe ich mir die Frage gestellt, ob der von uns beschriebene Bacillus vielleicht mit einem von diesen identisch war. Schon Theobald Smith hat den von ihm und Kilborne gefundenen Abortusbacillus mit dem Bacillus suipestifer verglichen, und sagt (1):

"Another fact of interest in connection with this pathogenic bacillus is its close resemblance to the hog-cholera bacillus. As I shall show by illustrations in a future article, the specific bacillus obtained directly from outbreaks of hog-cholera varies slightly in its biological and morphological characters, and if the bacillus in question had been sent to me as having come from swine I should not have hesitated to regard it as a hog-cholera bacillus of rather feeble virulence, and possessing some slight differential characters from the virulent form. In other words, the differences between this form and the virulent hog-cholera bacillus are no greater than between the hog-cholera bacilli of widely varying pathogenic power which I have thus far investigated. This fact does not of course prove it to be identical with Bacillus cholerae suis, but the presumption is strongly in favour of a close relationship. The points of resemblance include form, motility, growth on the various culture media, including the fermentation tube staining reactions, and pathogenic action. The only points of difference are feeble pathogenic action, and a tendency to a membranous growth on agar, which tendency, however, is not pronounced."

Es war also sehr wichtig, den isolierten Bacillus, welcher in fast allen kulturellen und morphologischen Verhältnissen insoweit sie von diesen Autoren angegeben wurden, identisch ist mit dem Bacillus von Smith und Kilborne, mit dem Bacillus suipestifer zu vergleichen. Ich habe in dieser Hinsicht Agglutinationsversuche angestellt. Das Serum, welches bei diesen Versuchen verwendet wurde, war imstande, den betreffenden Paratyphus B-Abortusbacillus in einer Ver-

dünnung von über 1:10000 zu agglutinieren und wurde von der p. 57 erwähnten Stute bekommen. Dieses Serum wurde in abgestufter Menge mit 3 verschiedenen Stämmen des Bacillus suipestifer zusammengebracht, und war nicht imstande, in höheren Verdünnungen als 1:100 zu agglutinieren. Agglutinatorisch sind also der Abortusbacillus und der Bacillus suipestifer gut voneinander zu trennen. Wie oben schon erwähnt, sind diese Versuche aber noch auf andere ähnliche Bakterien ausgedehnt worden. Nachfolgende Tabelle gibt davon eine Uebersicht:

Stutenserum mit	Paratyphus B-Abortusbacillen	Titer
" "	Bacillus suipestifer Stamm I	1:10000
" "	" " " II	" 1:100
" "	" " " III	" 1:50
" "	" enteritidis Gärtner (Utrecht)	" 1:100
" "	" " (Akkum)	" 1:100
" "	" " (Berlin)	" 1:200
" "	" paratyphosus B [(Mensch)Lisse]	" 1:300
" "	" " B [(Mensch)Utrecht]	" 1:100
" "	" " B (Meerschweinchen)	" 1:200
" "	" " B (Huhn)	" 1:400
" "	" " B (Ziege)	" 1:200
" "	" typhi murium Löffler	" 1:200
" "	" " "	" 1:2400

Wenn es also erlaubt ist, das agglutinatorische Verhältnis zur Trennung zu verwenden, so ist der von uns untersuchte Bacillus nicht nur vom Schweinepestbacillus, sondern auch von verschiedenen anderen Paratyphus B- bzw. Enteritisebakterien verschieden.

Nur der Bacillus typhi murium (Löffler) wurde in obenstehendem Versuch ziemlich stark agglutiniert, blieb aber weit zurück gegen den betreffenden Paratyphus B-Abortusbacillus.

#### IV. Schlußbetrachtungen.

Aus den mitgeteilten Untersuchungen ist erstens wohl zu folgern, daß unter den enzootisch auftretenden Abortusfällen bei Stuten in Zukunft auch jene zu nennen sind, die durch einen Repräsentanten der Paratyphus B-Enteritis-Gruppe verursacht werden. Kommen bei dem Abortus der Stuten auch noch andere Ursachen in Betracht, wie z. B. der Streptococcus von Ostertag oder der Bacillus von Bang, vielleicht auch die von anderen Autoren mehr oder weniger genau beschriebenen Mikroben, so steht doch der ursächliche Zusammenhang zwischen dem Paratyphus B-Abortus-Bacillus und Stutenabortus meines Erachtens mindestens ebenso fest. Jedenfalls ist dieser Urheber des Stutenabortus besser bekannt, und auch früher schon von Smith und Kilborne und von Lignières beschrieben worden. In dieser Hinsicht würden unsere Untersuchungen wenig Neues bringen, wenn nicht die Mitteilungen der zuletzt genannten Autoren gänzlich vergessen worden wären. Man hat also jetzt anzunehmen, daß in Amerika und in Europa der Paratyphus B-Abortus gelegentlich vorkommt und erheblichen wirtschaftlichen Schaden anrichten kann.

Merkwürdig ist dabei, daß dieser Abortus dann wieder ohne besondere Maßnahmen verschwinden kann. In dieser Hinsicht ist der von dem Bangschen Bacillus verursachte Abortus der Rinder viel ungünstiger zu beurteilen.

Wenn letzterer irgendwo festen Fuß gefaßt hat, bedroht er fortwährend die Rinderzucht, infiziert möglicherweise auch Stuten, obwohl das nicht feststeht; er verschwindet jedoch keineswegs so schnell, wie das mit dem Paratyphus B-Abortus des Pferdes der Fall sein kann.

Immunitätsverhältnisse, welche die Ursache des Verschwindens der Enzootie und damit auch die Grundlagen einer spezifischen Prophylaxis bilden könnten, sind durch unsere Untersuchungen nicht sehr deutlich dargelegt worden. Immerhin war aber zu folgern, daß eine geringgradige, künstliche Immunität zu erzielen ist, und zwar durch aktive Immunisierung. Dafür sprechen die Resultate bei den Versuchsstuten, sowie die gelungene aktive Immunisierung von Kaninchen. Und es ist selbst in hohem Maße wahrscheinlich geworden, daß namentlich durch Aufnahme des Virus per os unter natürlichen Umständen Selbstimmunisierung folgen kann und dadurch das allmähliche Verschwinden der Seuche gefördert wird. Die Tatsache jedoch, daß der spezifische Mikroorganismus schnell an Virulenz einbüßen kann, hat vielleicht in letzterer Hinsicht einen größeren Wert. Und nichts spricht gegen die Annahme, daß, in Uebereinstimmung mit den, übrigens nicht scharf umschriebenen Eigenschaften der Paratyphus B-Enteritisbakterien, welche ein saprophytisches Dasein führen können, auch der Abortus-Paratyphusbacillus unter geeigneten Umständen wieder an Virulenz zunehmen und aufs neue Enzootien verursachen kann, welche in der Hauptsache nur Stuten zu betreffen scheinen. Versprechen also die durch unsere Untersuchungen bekannt gewordenen Tatsachen für die Immuntherapie und Immunprophylaxis noch nicht sehr viel, so sind sie doch jedenfalls in dieser Hinsicht nicht ungünstiger zu beurteilen als die Erfahrungen bei dem Rinder-Abortus, wo bis jetzt die spezifische Prophylaxis auch noch nicht viel geleistet hat. Das soeben Angeführte ist wirklich aus unseren Versuchen zu folgern. Von öfters ziemlich starker, jedenfalls wechselnder Virulenz für kleinere Versuchstiere, wie solches auch von den anderen Repräsentanten der Paratyphus B-Enteritis-Gruppe bekannt ist, war der isolierte Mikroorganismus wechselnd virulent für Stuten, obwohl er imstande ist, Abortus herbeizuführen. Konnte bei den kleineren Versuchstieren vom Erreichen künstlicher Immunität in einigen Fällen die Rede sein, so war bei den Stuten solches auch, obwohl weniger deutlich, der Fall. Zwar bildet das Blutserum in natürlicher Weise oder künstlich immunisierter Tiere schnell und in ansehnlichem Maße Agglutinine, aber von anderen Schutzstoffen, abgesehen von eventuellen Opsoninen oder Antiaggressinen, woraufhin nicht untersucht wurde, war doch eigentlich nicht die Rede. Mit diesen Tatsachen vor Augen kann die Serotherapie und die Seroprophylaxis nur wenig versprechen, und jedenfalls scheint es, daß in dieser Richtung die aktive Immunisierung mittels aus abgetöteten Kulturen hergestellten Vaccins viel mehr auf der Hand liegt, auch wegen der geringen, mit der Anwendung ver-

bundenen Gefahr, als die Serumimmunisierung. Die Infektionswege des Bacillus sind nicht sicher bekannt, aber sehr wahrscheinlich spielt die Fütterungsinfektion eine Hauptrolle. Das Inkubationsstadium scheint jedoch in allen Fällen sehr kurz zu sein, höchstens einen Monat. Weil der Mikroorganismus nicht als obligater Parasit zu betrachten ist, sondern, wenn sich einmal ein Fall des Verwerfens gezeigt hat, in den Aufenthaltsorten der Tiere anwesend ist und überdies von diesen Tieren während einiger Zeit ausgeschieden und verbreitet wird, ist zu folgern, daß hygienische Maßnahmen von großem Nutzen sein können, vor allem, wenn es möglich ist, die gesunden Tiere in andere, nicht infizierte Lokaltäten unterzubringen, ihnen womöglich anderes Futter, anderes Trinkwasser und auch anderes Wartepersonal zu geben.

Wie bei den zahlreichen pathogenen Repräsentanten der Paratyphus B-Enteritis-Gruppe ist es schwer, auch dem Abortusbacillus der Stute einen bestimmten Platz darin zu geben. Agglutinatorisch stimmt er am meisten überein mit einer von Geheimrat Loeffler in Greifswald in liebenswürdiger Weise geschickten Mäusetyphuskultur. Weitere Schlußfolgerungen sind aus der vorliegenden Arbeit nicht zu ziehen.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Kilborne, An outbreak of abortion on mares. (U. S. Departm. of Agricult. Bur. of anim. Industr. Bull. No. 3. Washington 1893. p. 49.) — Smith, On a pathogenic bacillus from the vagina of a mare after abortion. (Ibid. p. 53.)
- 2) de Jong, D. A., Ueber einen Bacillus der Paratyphus B-Enteritisgruppe als Ursache des seuchenhaften Abortus der Stute. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. p. 148.)
- 3) Flandrin, De l'avortement dans les femelles des animaux domestiques. (Instruct. sur les maladies d. animaux domest. T. 6. 1804. p. 107.)
- 4) Guillerey, De l'avortement épizootique des juments. [Thèse]. Bern 1901.
- 5) Complete Farmer. 1807.
- 6) Demoussy, Memoire sur les chevaux espagn. Paris 1811.
- 7) Hurtrel d'Arboval, Avortement. (Dictionn. de méd. et chir. vétérin. p. 122.)
- 8) Youat, Abortion, or slinking. (Cattle. 1834. p. 529.)
- 9) Hering, Spezielle Pathologie und Therapie. 3. Aufl. 1858. p. 690.
- 10) Bouley, Avortement. (Dictionn. prat. de méd. chir. et d'hyg. vétérin. T. 2. p. 314.)
- 11) Stockfleth, Dtsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 4. p. 177.
- 12) Zündel, De l'avortement enzootique. (Recueil de méd. vét. 1871. p. 465.)
- 13) Saint-Cyr, Traité d'obstétrique. 1875. p. 217—228; 1888. p. 314 et 1174.
- 14) Lehnert, zit. nach The veterin. Journ. 1909. p. 459.
- 15) Bräuer, Ueber das epizootische Verkälben der Kühe. (Dtsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 14. 1888. p. 95.)
- 16) Nocard, Recherches sur l'avortement épizootique des vaches. (Recueil de méd. vét. 1886. p. 669.)
- 17) Woodhead, Aitken, MacFadyean and Campbell, Epizootic abortion. (The Journ. of comp. Pathol. and Therap. Vol. 2. 1889. p. 97.)
- 18) Gsell (Nocard), Bull. de la Soc. centr. de méd. vét. 1887. p. 163.
- 19) Ostertag, Lähme und seuchenhafter Abortus des Pferdes. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 12. 1901. p. 385.)
- 20) Bang, Die Aetiologie des seuchenhaften (infektiösen) Verwerfens. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 1. 1897. p. 241.)
- 21) Englische Kommission 1909. Epizootic abortion (abstract). (The veterin. Journ. 1909. p. 459.)
- 22) Lignières, Sur la groupe des Salmonelloses. (Recueil de méd. vét. 1905. p. 457.)
- 23) Nocard et Leclainche, Avortement épizootique. (Les maladies microbiennes des animaux.)

- 24) Turner, Infectious abortion in mares. Amer. Veterin. Rev. Vol. 17. 1893.)
- 25) Polakow, L'avortement épizootique des juments. (1. congrès d. vétérin. russes. T. 2. 1904.)
- 26) Kowalewsky, Polakow, L'avortement épizootique des juments. (Rev. génér. de méd. vét. T. 2. 1904. p. 371.)
- 27) Dassonville et Rivière, Contribution à l'étude de l'avortement épizootique. (Rev. génér. de méd. vét. 1913. p. 237 et 301.)
- 28) Löffler, Zum Nachweis und zur Differentialdiagnose der Typhusbacillen mittels der Malachitgrünnährboden. (Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 39.)
- 29) de Jong, D. A., Het verband tusschen de Paratyphus-infecties bij mensch en dieren. (Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 23. Nov. 1912.)

*Nachdruck verboten.*

## Versuche mit dem filtrierbaren Virus der „Meerschweinchenpest“.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin  
(Leiter: Prof. L. Pagliani).]

Von Dr. Giuseppe Sangiorgi, Privatdozenten und Assistenten.

Diese Forschungen haben ihren Ausgang genommen von einer kürzlich erschienenen Arbeit Mrowkas (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913), in der eines der dunkelsten Probleme der Mikrobiologie, nämlich das Problem des Wesens der sogenannten filtrierbaren Viren, unmittelbar berührt wird.

Wie bekannt, geht Mrowka von dem Gedanken aus, daß die filtrierbaren Viren keine gebildeten Organismen, Bakterien- oder Protozoenformen darstellen, sondern in den organischen Flüssigkeiten aufgeschwemmte Substanzen kolloidaler Natur und als solche imstande sind, sich im Organismus zu verbreiten, indem sie sich mit den zirkulierenden kolloidalen Massen homogenisieren. Dieser Denkweise folgend, hat Mrowka unter Verwendung eines geeigneten filtrierbaren Virus, des Vogelpestvirus, resp. des Pericardiumexsudats experimentell mit Pest infizierter Hühner, zahlreiche Versuche ausgeführt, die ich hier in ihren Hauptlinien kurz wiederzugeben versuche. Bei Behandlung des virulenten, zweckmäßig verdünnten Pericardiumexsudats mit Tannin hat er festgestellt, daß das Virus zusammen mit den Eiweißstoffen sich niederschlägt. In der Tat ist der durch Zentrifugierung abgesonderte Niederschlag infektiösfähig, nicht so dagegen die abgesonderte Flüssigkeit. Auch bei wiederholter Waschung des Niederschlags ist es Mrowka nicht gelungen, das Virus von dem Niederschlage zu trennen; das Waschwasser blieb immer avirulent. Verf. legt sich nun die Frage vor, ob das Virus an und für sich eine fällbare, albuminoide Substanz sei, oder ob die albuminoide Substanz das Virus nicht darstelle. Nachdem er sich dann überzeugt hatte, daß das Virus mit den Eiweißsubstanzen niedergeschlagen wird, kam er auf den Gedanken, die albuminoiden Stoffe des Pericardiumexsudats mit Hilfe der Dialyse zu zerteilen, um zu erfahren, ob das Virus sich mit dem Albumin oder dem Globulin niederschlägt. An der Hand zahlreicher Versuche hat er dann zu erkennen vermocht, daß der Eiweißstoff, mit dem das Virus sich niederschlägt, das Globulin ist, da es fast beständig infizierend wirkt, was bei dem Albumin nicht der Fall ist. Mrowka gelangt daher zu dem Schlusse, daß das Virus der Vogelpest ein Globulin ist.



Geben wir nun auch zu, daß der Schluß des Verf. der Kritik gegenüber nicht völlig stichhaltig ist, so kann doch nicht geleugnet werden, daß seinen Versuchen neue Tatsachen auf dem Gebiete der filtrierbaren Viren entsprungen sind, die unsere volle Aufmerksamkeit verdienen.

Die Gelegenheit, die Versuche Mrowkas fortzusetzen, war für mich insofern günstig, als ich mich bereits mit der Erforschung eines filtrierbaren Virus, nämlich des zu spontanen Meerschweinchenseuchen führenden Virus der sogenannten „Meerschweinchenpest“, beschäftigt hatte (De Gasperi und Sangiorgi, Bericht an die VIII. Versammlung italienischer Pathologen in Pisa, 27. März 1913), als die Arbeit Mrowkas erschien.

Wie ich nachgewiesen habe, verbreitet sich dieses Virus auf den ganzen Organismus der Meerschweinchen und ist schon 24 Stunden nach der Inokulation im Blute wahrnehmbar, wonach also sowohl das defibrierte Blut wie auch das Blutserum in gleicher Weise infizierend wirken. Dieser besonderen biologischen Eigenschaft zufolge bot mir das Virus der Meerschweinchenpest resp. das Blutserum des mit demselben Virus behandelten Meerschweinchens ein für die Versuche günstiges und von dem Mrowkaschen nur ganz wenig abweichendes Substrat, welches letzteres, wie ich bereits erwähnt habe, aus dem Pericardiumexsudat der mit Vogelpest infizierten Hühner bestand; mit anderen Worten, ich verfügte über eine gleichzeitig Eiweißstoffe und Virus enthaltende Flüssigkeit.

Ohne nun beim Experiment von den allgemeinen, von Mrowka gezeichneten Linien abzuweichen, habe ich mich doch ganz anderer technischer Mittel bedient, als der genannte Forscher. So griff Mrowka zur Fällung der Eiweißstoffe des Pericardiumexsudats zum Tannin und zur Trennung des Albumins vom Globulin zur Dialyse, ich dagegen zum kolloidalen Eisenhydrat und zur Kohlensäure, natürlich nicht ohne mich vorher davon überzeugt zu haben, daß diese Stoffe nicht schädigend auf das im Experiment stehende Virus einzuwirken vermögen.

Als typisch gebe ich hier einen der Versuche der ersten Reihe wieder, mit der über die erste von Mrowka beobachtete Tatsache Sicherheit geschaffen werden sollte, ob nämlich das Virus zusammen mit den Eiweißstoffen des Serums gefällt wird.

Das mit dem 5-fachen Volumen destillierten, sterilen Wassers verdünnte Blutserum (eines mit Virus behandelten Meerschweinchens) wird mit dem kolloidalen Eisenhydrat (mit ungefähr derselben Menge wie die des Serums zum Erhalt der vollständigen Fällung der Eiweißstoffe) gefällt. Der Niederschlag wird nun mittels Filtrierung durch Papier von dem flüssigen Teil getrennt, der klar und albuminlos ist (Probe mit der Trichloressigsäure). Das auf dem Filter zurückgebliebene und in steriler physiologischer Lösung aufgelöste Albumin, sowie das Filtrat werden dann (1 ccm) in das Bauchfell des Meerschweinchens A resp. B inokuliert. Das Meerschweinchen C (Kontrolltier) erhält ins Bauchfell dieselbe Quantität verdünnten Serums. Die Meerschweinchen wiegen ungefähr gleichviel (300 g).

Meerschweinchen A verendet nach 13 Tagen.

Meerschweinchen B bleibt am Leben (steht 30 Tage in Beobachtung, erliegt einer späteren Virusinokulation).

Meerschweinchen C verendet nach 6 Tagen.

Zwecks Prüfung der Möglichkeit der Trennung des Virus vom Niederschlag wird dieser wiederholten Waschungen in sterilem, destilliertem



Wasser unterworfen und zentrifugiert. Das gewaschene und in steriler physiologischer Lösung gelöste, sowie das keine Albuminreaktion abgebende Waschwasser werden (1 ccm) ins Bauchfell des Meerschweinchens D bzw. E eingepflegt.

Meerschweinchen D stirbt nach 12 Tagen.

Meerschweinchen E bleibt am Leben (30 Tage Beobachtungszeit; erliegt einer späteren Virusinokulation).

Dieser Versuch und zwei weitere mit derselben Technik vorgenommene, die zu demselben Ergebnis führten, die ich aber der Kürze wegen übergehe, haben nunmehr die erste von Mrowka gemachte Beobachtung bestätigt, daß nämlich das Virus niedergeschlagen wird, wenn die Eiweißstoffe der Flüssigkeit ausfallen, und daß es vom Niederschlag nicht getrennt werden kann.

In einer zweiten Reihe von Versuchen habe ich das mit dem 5-fachen Volumen destillierten, sterilen Wassers verdünnte Blutserum eines infizierten Meerschweinchens ca. 15 Minuten lang der Einwirkung von Kohlensäure ausgesetzt, um so das Globulin allein zu fällen. Daraufhin wird das Globulin mittels Zentrifugierung abgesondert.

Der nicht gefällte Teil und das Globulin (das zuerst in mit Kohlensäure gesättigtem destillierten Wasser gewaschen und dann in sterile physiologische Lösung verbracht wurde) werden (1 ccm) in das Bauchfell des Meerschweinchens F bzw. G eingepflegt, die ungefähr dasselbe Gewicht haben. Das Meerschweinchen H dient, wie oben, zur Kontrolle.

Meerschweinchen G stirbt nach 9 Tagen.

Meerschweinchen H stirbt nach 7 Tagen.

Meerschweinchen F bleibt am Leben (30 Tage Beobachtungszeit. Unterliegt einer späteren Viruseinimpfung).

Was ich bereits bei den Versuchen der ersten Reihe in bezug auf das mit dem kolloidalen Eisenhydrat gefällte Albumin versucht habe, wurde hier wiederholt, d. h. das Globulin wurde zwecks seiner Lostrennung von dem mit ihm gefällten Virus mehrfach gewaschen, aber mit vollständig negativem Ergebnis. Auch dieses, von drei anderen mit ihm übereinstimmenden Versuchen gestützte Experiment bestätigt die interessanteste der sich aus den Forschungen Mrowkas ergebenden Tatsachen, daß nämlich das Virus sich zusammen mit dem Globulin niederschlägt<sup>1)</sup>.

Es bestätigen also, alles zusammenfassend, die Ergebnisse meiner Untersuchungen die Resultate Mrowkas, was um so interessanter ist, wenn man bedenkt, daß sie mit ganz anderen Mitteln erhalten worden sind, als die des erwähnten Verfassers, und vor allem mit einem Virus, das eine Krankheit in voneinander entfernt liegenden Tierarten erzeugt hat. Die von Mrowka für das Vogelpestvirus zutage geförderte biologische Tatsache gilt demnach auch für das Virus der Meerschweinchenpest. Nun trägt aber Mrowka auf Grund der erhaltenen Resultate kein Bedenken zu behaupten, daß, wie vorerwähnt, das Virus der Vogelpest ein Globulin ist. Wer kann unter solchen Verhältnissen leugnen, daß diese — sagen wir chemische — Deutung Mrowkas, nach der also

1) Es ist ganz selbstverständlich, daß die zu diesen Versuchen herangezogenen Tiere unter den günstigsten Verhältnissen gelassen worden sind, die Verendeten demnach ausschließlich der Pest erlagen, ohne Zwischentreten zufälliger Krankheitsursachen, und die am Leben Gebliebenen den Eingriff nicht aus natürlicher Immunität dem Virus gegenüber überlebt haben, denn wie aus dem Vorstehenden hervorgeht, sind die zuerst am Leben gebliebenen Meerschweinchen nachher ohne Ausnahme der Virusimpfung zufolge verendet.

das Virus der Vogelpest ein Eiweißstoffkolloid sein soll, sich nicht verträgt mit dem, was kürzlich Marchoux festgestellt und Landsteiner und Berliner bestätigt haben, daß nämlich das Virus der Vogelpest in vitro durch zahlreiche Generationen hindurch gezüchtet werden kann, also ein lebender vervielfältigungsfähiger Organismus ist? Dieselbe Frage läßt sich meines Erachtens auch in bezug auf das Virus der Meerschweinchenpest stellen, wenngleich uns über die Möglichkeit oder Unmöglichkeit einer Züchtung dieses Virus in vitro nichts bekannt ist. Ich bin der Meinung, daß diese Erscheinung eine von der Wahrheit nicht weit abstehende Erklärung fände, wenn wir annehmen würden, daß es sich da um eine mechanische Adhäsion des Virus an die Eiweißsubstanz handelt, wenngleich eine solche Erklärung, die auch Mrowka vorgeschwebt hat, diesem Forscher nicht ausreichen will, da die Waschung die Loslösung des Virus vom Niederschlag nicht zu bewerkstelligen vermag.

Auf jeden Fall bleibt die an und für sich interessante biologische Tatsache bestehen, deren Auffindung ein Verdienst Mrowkas ist, und bezüglich der die künftigen Forschungen dartun werden, ob sie auch in Hinsicht auf andere filtrierbare Viren zutrifft, zum mindesten aber für die Virusgruppe, die zusammen mit dem Virus der Vogelpest und der Meerschweinchenpest die Eigenschaft besitzen, sich im Organismus des Tieres verallgemeinern, und so in die organischen Flüssigkeiten übertreten zu können.

Erst dann wird es wahrscheinlich möglich sein, für diese Tatsachen eine gründlichere und bessere Deutung zu finden, zu der es uns heute, wenngleich bezüglich zweier Viren schon übereinstimmende Ergebnisse vorhanden sind, noch an ausreichenden Elementen fehlt.

*Nachdruck verboten.*

## Uebertragung des *Trypanosoma rhodesiense* durch die *Glossina palpalis*.

Von Dr. B. Eckard,

Stabsarzt in der Schutztruppe für Deutsch-Ostafrika.

Vor 5 Jahren zeigte Kleine<sup>1)</sup>, daß die Trypanosomen in den Glossinen einen Entwicklungsgang von einigen Wochen durchmachen müssen, bevor die Fliegen infizieren können. Diese Experimente wurden der Ausgangspunkt für eine neue Reihe von Untersuchungen, die in rascher Folge unsere Kenntnisse über die Art der Verbreitung der Trypanosomenkrankheiten vermehrten.

Folgende Tabelle gibt chronologisch eine Zusammenstellung, welche Uebertragungsversuche in der Hauptsache bisher den einzelnen Forschern gelungen sind.

Diese Ergebnisse sprechen immer mehr für die Annahme Kleines, daß sich in Afrika unter geeigneten klimatischen Bedingungen jede bekannte pathogene Trypanosomenart in jeder Glossinenspecies entwickeln kann. Ob aber nicht bei der Verbreitung der Trypanosomenkrankheiten

1) Alle Literaturangaben sind entnommen dem: Bulletin of the Sleeping Sickness Bureau in London und seiner Fortsetzung dem: Tropical Diseases Bulletin.

Tabelle.

Beobachter	Art der Trypanosomen	Uebertragen durch Glossine	Ort
Kleine	<i>Tr. brucei</i>	<i>Gloss. palpalis</i>	D.-O.-Afrika (Viktoriasee)
Kleine	<i>Tr. gambiense</i>	<i>Gloss. palpalis</i>	D.-O.-Afrika (Viktoriasee)
Bruce, Hamerton, Bateman und Mackie	<i>Tr. gambiense</i> und <i>Tr. von dimorphem</i> Typus	<i>Gloss. palpalis</i>	Uganda (Viktoriasee)
Bruce, Hamerton, Bateman und Mackie	<i>Tr. vivax</i>	<i>Gloss. palpalis</i>	Uganda (Viktoriasee)
Bouffard	<i>Tr. cazalbouï</i> *) (= <i>vivax</i> ?)	<i>Gloss. palpalis</i>	Senegambien
Bouet u. Roubaud	<i>Tr. cazalbouï</i> , <i>Tr. dimorphon</i> , <i>Tr. pecaui</i> (= <i>brucei</i> ?)	<i>Gloss. palpalis</i> , <i>tachinoides</i> , <i>longipalpis</i>	Dahomey
Fehlandt	<i>Tr. congolense</i>	<i>Gloss. morsitans</i> , <i>palpalis</i>	D.-O.-Afrika (Tanganyikasee)
W. Fischer	<i>Tr. brucei</i>	<i>Gloss. palpalis</i>	D.-O.-Afrika (Tanganyikasee)
Bouet u. Roubaud	<i>Tr. cazalbouï</i>	<i>Gloss. morsitans</i>	Dahomey
Taute	<i>Tr. gambiense</i>	<i>Gloss. morsitans</i>	D.-O.-Afrika (Tanganyikasee)
Kinghorn und Yorke	<i>Tr. rhodesiense</i>	<i>Gloss. morsitans</i>	Nord-Rhodesia
Duke	<i>Tr. nanum</i>	<i>Gloss. palpalis</i>	Uganda (Viktoriasee)
Kleine u. Fischer	<i>Tr. gambiense</i>	<i>Gloss. morsitans</i>	D.-O.-Afrika (Viktoriasee)
Fraser u. Duke	<i>Tr. uniforme</i>	<i>Gloss. palpalis</i>	Uganda (Viktoriasee)
Bouet u. Roubaud	<i>Tr. dimorphon</i>	<i>Gloss. morsitans</i>	Senegambien
Rodhain, van den Branden, Pons und Bequaert	<i>Tr. cazalbouï</i>	<i>Gloss. morsitans</i>	Kongostaat
Kinghorn und Yorke	<i>Tr. rhodesiense</i> , <i>Tr. pecorum</i> , (= <i>Tr. congolense</i> ?), <i>Tr. simiae</i>	<i>Gloss. morsitans</i>	Nord-Ostrhodesia
Bruce, Harvey, Hamerton, Davey u. Lady Bruce	<i>Tr. simiae</i>	<i>Gloss. morsitans</i>	Nyassaland
Ph. Ross	<i>Tr. von dimorphem</i> Typus	<i>Gloss. longipennis</i>	Br. Ost-Afrika
Kleine u. Fischer	<i>Tr. gambiense</i>	<i>Gloss. morsitans</i> , <i>palpalis</i>	D.-O.-Afrika (Steppe Zentral- afrika)
Bruce, Harvey, Hamerton, Davey u. Lady Bruce	<i>Tr. caprae</i>	<i>Gloss. morsitans</i>	Nyassaland

\*) Sollte sich Kleines Ansicht bestätigen, daß Ziemann bei der Beschreibung des *Tr. vivax* sich teilweise durch eine Mischinfektion mit *Tr. congolense* hat täuschen lassen, so würde sich die Differenz in der Pathogenität des *Tr. vivax* und des *Tr. cazalbouï* (Laveran) ohne weiteres erklären. *Tr. vivax* und *Tr. cazalbouï* sind dann identisch, und der letzte Name müßte zugunsten des älteren verschwinden. Eine Klärung der Angelegenheit kann sich nur ergeben, wenn in Kamerun das *Tr. vivax* noch einmal beschrieben wird.

die eine oder die andere Glossinenart bevorzugt wird, darüber könnten erst unter gleichen Bedingungen angestellte Parallelversuche und weitere Beobachtungen in der Natur Aufschluß geben.

Ich selbst hatte jetzt am Tanganyika Gelegenheit, einen Uebertragungsversuch durch *Glossina palpalis* mit dem *Tr. rhodesiense* auszuführen. Das *Tr. rhodesiense*, der Erreger einer Seuche des Menschen, wurde zuerst in Rhodesia gefunden, später im Nyassaland und in Portugiesisch-Ostafrika. In letzter Zeit ist es auch am Rovuma im Süden von Deutsch-Ostafrika aufgetreten, immer in Gegenden, wo nur *Gloss. morsitans* vorkommt. Von dem anderen für Menschen pathogenen Parasiten, dem *Tr. gambiense*, unterscheidet es sich durch seine größere Virulenz für alle empfänglichen Tiere und durch Kernverlagerungen, die in einem gewissen Prozentsatz nach einer Ueberimpfung im Blute von Meerschweinchen, Hunden, Affen, Ratten und auch Ziegen auftreten. Die von mir benutzten Trypanosomen stammen von einem Menschen aus Nyassaland.

Die Anordnung des Versuches war die gewöhnliche. 476 im Laboratorium gezüchtete *Gloss. palp.* wurden in Serien 4 Tage lang an infizierten Meerschweinchen und nach 2 folgenden Hungertagen an verschiedenen gesunden Ziegen und Affen gefüttert. Am 32. Tage konnten bei einigen dieser Tiere die ersten Trypanosomen nachgewiesen werden. Durch Trennung und Einzelfütterung der Glossinen wurden dann im ganzen 12 (2,5 Proz.) infektiöse Fliegen ermittelt. Außerdem zeigten noch 9 Glossinen, die nach dem 10. Tage gestorben waren, in Entwicklung begriffene Trypanosomen.

Drei der als infektiös festgestellten Fliegen benutzte ich, um die Infektiosität ihrer einzelnen Organe zu prüfen. Nachdem sie 2 Tage lang Blut von gesunden Tieren gesogen hatten, wurden sie am nächsten Tage (40. Versuchstag = Alter der Fliegen) mit Chloroform betäubt. Speicheldrüsen, Proventrikel und Darm wurden dann herauspräpariert und getrennt 9 verschiedenen, gesunden Affen subkutan injiziert. Bereits nach 5 Tagen waren bei allen 9 Affen Trypanosomen nachzuweisen. Dies entspricht den Resultaten, die Kinghorn und Yorke bei ähnlichen Versuchen mit der *Gloss. morsitans* und dem *Tr. rhodesiense* erhielten. Es steht aber im strikten Gegensatz zu den Ergebnissen von Kleine und Eckard<sup>1)</sup> und auch von M. Robertson, denen es bei Versuchen mit *Gloss. palpalis* und dem *Tr. gambiense* nicht gelang, mit dem Darm oder dem Proventrikel infektiöser Fliegen Affen zu infizieren; hier erwiesen sich nur die Speicheldrüsen infektiös.

Da es wahrscheinlich ist, daß das *Tr. rhodesiense* und das *Tr. gambiense* den gleichen Entwicklungsgang in der Glossine durchmachen, mußte den Gründen für den verschiedenen Ausfall der Experimente nachgegangen werden.

Ein Fehler der Präparationstechnik, d. h. jede Läsion der Speicheldrüsen, wird sich darin äußern, daß nicht nur die Speicheldrüsen, sondern auch andere Organe infizieren, die mit dem Drüsensekret versehentlich in Berührung kommen. Von vornherein scheinen deshalb Experimente, wo der Darminhalt nicht infiziert, besonders einwandfrei. Aber immerhin sind die Versuche, die das gegenteilige Resultat zeitigen, etwas zu

1) Diese Versuche sind inzwischen fortgeführt. Von 13 infektiösen Fliegen waren bei 11 nur die Speicheldrüsen und nicht auch der Darmkanal infektiös.

zahlreich, als daß zu ihrer Erklärung die Annahme eines technischen Fehlers allein genügte. Unter anderem wurde deshalb die Möglichkeit erwogen, daß das Alter der untersuchten Fliegen das Ergebnis beeinflussen könne. Bei den erwähnten Experimenten von Kleine und Eckard waren nämlich die infektiösen Glossinen durchschnittlich 50 bis 60 Tage alt, bei meinem Rhodesiense-Versuch nur 40 Tage. — Zur Entscheidung der Frage wurde eine infektiöse Fliege bis zum 54. Tage am Leben erhalten und dann präpariert. Diesmal erkrankte in der Tat nur der Affe, dem die Speicheldrüsen eingespritzt waren, und zwar wieder am 5. Tage; die beiden anderen Affen blieben gesund. Dabei beherbergte der Darm, wie die mikroskopische Untersuchung eines Stückchens zeigte, sehr zahlreiche Trypanosomen. Hiernach möchte ich annehmen, daß die Entwicklung der Trypanosomen im Darm in wechselnden Zeiträumen allmählich zu Ende geht, und daß die virulenten Parasiten in die Speicheldrüsen auswandern.

*Nachdruck verboten.*

## Züchtungsversuche mit *Babesia canis* nach der Bassschen Methode.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg  
(Leiter: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von Dr. Hideo Toyoda.

Mit 1 Tafel.

Die interessante Mitteilung von Bass über die Züchtung der Malaria plasmodien in vitro in dextroshaltigem, leukocytenfreiem Blute veranlaßte Vrijburg, Ziemann sowie Knuth und Richters, die Methode bei *Babesia* zu versuchen.

Vrijburg prüfte dieselbe bei *Babesia bigemina*; aber es gelang ihm nicht, die Parasiten zu züchten. Ziemann untersuchte sie dann bei *Babesia canis*. Es zeigte sich dabei, daß die einfache Uebertragung der Vorschriften von Bass auf die Kultur dieser Parasiten durchaus nicht immer zum erwünschten Ziele führte. Ziemann verbesserte daher die Methode, indem er das dextrose-, natriumcitrat-haltige Hundeserum bei 45° C eine Stunde lang „inaktivierte“; dann gelang ihm die Kultivierung besser.

Knuth und Richters geben in einer kurzen Mitteilung an, daß sie in einem Gemisch von 2-proz. Dextroselösung und defibriniertem Blut günstige Resultate, am besten bei Zimmertemperatur, erhalten haben. Sie sahen noch nach 8 Tagen eine deutliche Vermehrung. Ueber Subkultur ist nichts angegeben.

Die Mitteilung von Ziemann haben wir folgenderweise nachgeprüft.

### 1. Herstellung des Nährbodens.

Auf je 10 ccm Serum eines jungen gesunden Hundes setzt man 0,2 ccm 50-proz. Dextroselösung und 0,3 ccm einer Lösung von 2-proz. Natrium citricum und 0,85-proz. NaCl-Lösung zu. Das Serum wurde in kleine enge Reagensgläser 5 cm hoch überpipettiert und dann bei 45° C eine Stunde lang inaktiviert.

## 2. Entnahme des *Babesia*-Blutes und Kultivierung.

Das Blut der jungen Hunde, bei denen die Parasiten spärlich waren, d. h. eben erst im peripheren Blute auftraten, wurde aus der Fußvene der Hunde mittels einer sterilen Kanüle in einer Spritze von 10 ccm Inhalt aufgefangen und dann in einen graduierten Zylinder gegossen und defibriniert; sodann wurde auf je 10 ccm 0,2 ccm 50-proz. Dextrose-lösung und 0,3 ccm einer 2-proz. Natrium citricum-0,85-proz. NaCl-Lösung hinzugefügt.

Es wurde dann so lange zentrifugiert, bis die Blutkörperchen sich abgesetzt hatten, und das Serum abpipettiert; hernach wurden die roten Blutkörperchen vorsichtig möglichst leukocytenfrei vom Boden des Zentrifugenröhrchens in eine Pipette gesogen und je 0,4–0,5 ccm auf den Boden je eines der nach obiger Angabe vorbereiteten Serumröhrchen deponiert.

## 3. Anlage der Subkulturen.

Aus der Fußvene eines jungen gesunden Hundes wurde das Blut entnommen, defibriniert, Dextrose und Natriumcitrat zugesetzt, zentrifugiert, das Serum abpipettiert und dann das Blut aus der Tiefe der Zentrifugenröhrchen in die Pipette vorsichtig gesogen, wie bei obigem Versuch.

Nun wurden ca. 0,4 ccm dieser frischen roten Blutkörperchen mit ca. 0,1 ccm von dem Kulturblut in einem Reagensgläschen gemischt. Diese gemischten Blutkörperchen wurden in ein Reagensglas, das mit dem oben geschilderten Nährboden (inaktiviertes Dextrosehundeserum) gefüllt war, auf den Boden des Röhrchens überpipettiert; dann wurde die Kultur in den Brutschrank bei 37° C gestellt.

In dieser Weise haben wir mehrere Male Kultivierung von *Babesia canis* geprüft.

Im folgenden soll der einzige Fall, der bis zur 2. Subkultur gelang, geschildert werden.

Ein gesunder junger Hund wurde am 16. Juli 1913 mit *Babesia canis* infiziert und zeigte am 23. Juli 1913 im peripheren Blut spärliche Parasiten. An demselben Tage wurde das Blut des Hundes entnommen und kultiviert. Um einen Anhalt betr. der Vermehrung zu gewinnen, wurden von den zur Kultivierung frisch abzentrifugierten und abpipettierten *Babesia*-Blutkörperchen sofort Objekträgerausstriche angefertigt und die Parasiten an verschiedenen Stellen gezählt.

Es wurden bei einem Präparate — auch bei den späteren Untersuchungen — zu diesem Zweck zunächst 50 Gesichtsfelder der gleichen Ausstrichteile durchmustert; nämlich von ungefähr der Mitte des Ausstriches ab die 2 Randpartieen und das Ende des Ausstriches. Stets wurden möglichst gleichartige Ausstriche dazu angefertigt.

In diesem Falle fanden wir vor Beginn der I. Kultur in 50 Gesichtsfeldern im ganzen nur 6 Parasiten, die auf 6 verschiedene Gesichtsfelder sich verteilten. Es waren alles amöboide Formen. An einigen anderen Stellen des Präparates — also außerhalb der 50 Gesichtsfelder — und in einigen anderen gleichzeitig angefertigten Ausstrichen fanden sich mehrere 2-, vereinzelte 4- und eine 8-fache Teilung. Bei diesem Züchtungsversuch wurden die Kulturen erst 18 Stunden bei 37° C, dann 6 Stunden bei Zimmertemperatur und wieder bis zum nächsten Morgen bei 37° C, und dann 6 Stunden bei Zimmertemperatur usw. abwechselnd gehalten.

Nach 18 Stunden wurden auf 50 Gesichtsfeldern des Objektträgerausstriches von der Originalkultur an 4 Stellen Parasiten gefunden, und zwar meistens Schizogonieförmigkeiten mit 6 oder 8 Merozoiten in einem Blutkörperchen (Fig. 1); die Gesamtzahl aller dieser Merozoiten war 25<sup>1)</sup>. Nach 2 Tagen fanden sich 46 Merozoiten im ganzen auf 50 Gesichtsfeldern des Objektträgerausstriches an 4 Stellen, und zwar meist als Schizogonieförmigkeiten mit 8, nicht selten mit 16 Merozoiten innerhalb der roten Blutkörperchen. Die Parasiten wurden auffallend größer, und man sah viele Parasiten, die an einem Ende fein zugespitzt waren (Fig. 2, 3 und 4). Nach 3 Tagen waren die Parasiten meistens außerhalb der Erythrocyten, und es zeigten sich stark degenerierte (rund, eckig usw.) und zerfallene Formen. Auf 50 Gesichtsfeldern eines Objektträgerausstriches waren an zwei Stellen 2 Merozoiten im ganzen und noch an anderen Stellen — also außerhalb obiger 50 Stellen — 2 Schizogonieförmigkeiten, die eine mit 16 Merozoiten innerhalb eines roten Blutkörperchens, die andere mit über 20 Merozoiten, die schon ziemlich zerfallen waren, außerhalb des Blutkörperchens (Fig. 5) zu sehen. Nach 4 oder 5 Tagen fanden sich nur zerfallene Parasiten in spärlicher Zahl. Nach 6 Tagen waren keine Parasiten mehr zu finden.

#### Die erste Subkultur.

Aus der 18 Stunden alten Originalkultur bei 37° C wurde die erste Subkultur gemacht. Zur Subkultur wurde stets Blut von einem jungen gesunden Hunde genommen; jedesmal als Kontrolle auch in ein Dextrose-Hundeserum-Röhrchen, wie Piroplasma-Blut, verimpft und untersucht. Aber in diesen Kulturen waren niemals Parasiten zu finden.

Bei der ersten Subkultur wurde nach 18 Stunden bei 37° C auf 50 Gesichtsfeldern eines Objektträgerausstriches nur an einer Stelle eine sehr interessante Teilungsform mit vielen Merozoiten, die ganz dicht nebeneinander zusammenliegen (Fig. 6), gefunden.

Auf 50 Gesichtsfeldern eines Kontroll-Objektträgerausstriches, der aus dem Subkulturröhrchen unmittelbar vor der Kultivierung gemacht wurde, war nur eine Schizogonieförmigkeit mit 6 Merozoiten in einem Erythrocyten zu sehen.

Nach 2 Tagen waren viele Schizogonieförmigkeiten in der ersten Subkultur meistens mit 8 Merozoiten innerhalb oder außerhalb der Erythrocyten, darunter eine interessante Teilungsform, bei der ein Restkörper im Zentrum von 6 Merozoiten in einem roten Blutkörperchen zu sehen war (Fig. 8). In den nach der oben angegebenen Methode ausgewählten 50 Gesichtsfeldern wurden im ganzen 16 Merozoiten an zwei Stellen des Objektträgerausstriches gefunden.

Nach 3 Tagen zeigten die Parasiten in der Kultur Degenerationsformen — große runde, oder eckige Formen — die sich außerhalb der Blutkörperchen befanden (Fig. 9). Auf 50 Gesichtsfeldern eines Objektträgerausstriches waren 23 Merozoiten im ganzen an 4 Stellen zu sehen.

Nach 4 Tagen sind die meisten Parasiten zerfallen und nur noch sehr wenige zu finden. Nach 5 Tagen hatte die erste Subkultur keine Parasiten mehr.

1) Auf diese Weise ist auch im Folgenden stets die Gesamtzahl der einzelnen Sprößlinge = Merozoiten, die sich also auf eine geringere Gesamtzahl von Teilungsformen verteilen, angegeben.

### Die zweite Subkultur.

Aus der 18 Stunden alten ersten Subkultur wurde die zweite Subkultur gemacht.

Nach 18 Stunden waren keine Parasiten auf einem Objektträgerausstrich von der Kultur zu finden, deswegen wurde die Kultur weitere 48 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und wieder mikroskopisch untersucht. Dann konnte man in der Kultur sichere Vermehrung der Parasiten beobachten, indem 24 Merozoiten im ganzen auf 50 Gesichtsfeldern eines Objektträgerausstriches an 4 Stellen gefunden wurden, darunter eine interessante ganz junge Teilungsform in einem Erythrocyten, welche sonst in dieser Züchtungsserie niemals beobachtet wurde (Fig. 10). Die Kultur wurde weiter 18 Stunden bei 37° C gehalten. Danach war eine auffallende Vermehrung der Parasiten zu konstatieren, indem 47 Merozoiten im ganzen auf 50 Gesichtsfeldern eines Objektträgerausstriches an 8 Stellen gefunden wurden. Außerdem haben wir auch in der Kultur junge Schizogonieformen mit 2 oder 4 Merozoiten beobachtet. Diese Beobachtung ist sehr interessant, weil man daraus schließen kann, daß die Parasiten in der Kultur neue Blutkörperchen infiziert haben (Fig. 11 und 12).

Nach 5 Tagen treten Degeneration und Zerfall der Parasiten ein. 17 Merozoiten waren auf 50 Gesichtsfeldern eines Objektträgerausstriches an 3 Stellen zu sehen.

Nach 6 Tagen zeigte der Objektträgerausstrich von der Kultur auf 50 Gesichtsfeldern nur an einer Stelle zerfallene Parasiten.

### Dritte Subkultur.

Aus der zweiten 3 Tage alten Subkultur wurde die dritte Subkultur gemacht und einige Tage untersucht. Es hatte aber keine Vermehrung der Parasiten in der Kultur stattgefunden.

Die beigegebene Tabelle zeigt nochmals genauer den Gang unserer Untersuchungen an.

Uebersicht über den Parasitenbefund in den Kulturen.

Kultur	1. Tag nach Anlage der Kultur	2. Tag nach Anlage der Kultur	3. Tag nach Anlage der Kultur	4. Tag nach Anlage der Kultur
Originalkultur	8-fache Teilung (Fig. 1).	16-fache Teilung (Fig. 2). 8-fache Teilung (Fig. 3). 16-fache Teilung; freie Form (Fig. 4).	Ueber 20-fache Teilung, frei, in Degeneration (Fig. 5).	Nur Degenerationsformen.
I. Subkultur	Anlage d. I. Subkultur.	Ca. 20-fache besondere Teilungsform (Fig. 6).	8-fache Teilung (Fig. 7). 8-fache Teilung (Fig. 8).	Ca. 8-fache Teilung, frei, in Degeneration (Fig. 9).
II. Subkultur		Anlage d. II. Subkultur.	Keine Parasiten gefunden. Bei Zimmertemperatur aufbewahrt.	Nicht untersucht. Bei Zimmertemperatur.



Kultur	5. Tag nach Anlage der Kultur	6. Tag nach Anlage der Kultur	7. Tag nach Anlage der Kultur	8. Tag nach Anlage der Kultur
Originalkultur	Nur zerfallene Formen in spär- licher Zahl.	Keine Parasiten mehr zu finden.		
I. Subkultur	Nur zerfallene Formen in spär- licher Zahl.	Keine Parasiten mehr zu finden.		
II. Subkultur	Zweiteilung (Fig. 10); von heute ab wieder bei 37° C.	8-fache Teilung (Fig. 11). 4-fache Teilung (Fig. 12).	16-fache Teilung (Degeneration?) (Fig. 13).	Nur zerfallene Parasiten.
III. Subkultur	Anlage der III. Subkultur.	Keine Vermeh- rung.	8-fache Teilung (Fig. 14).	Nur zerfallene Parasiten.

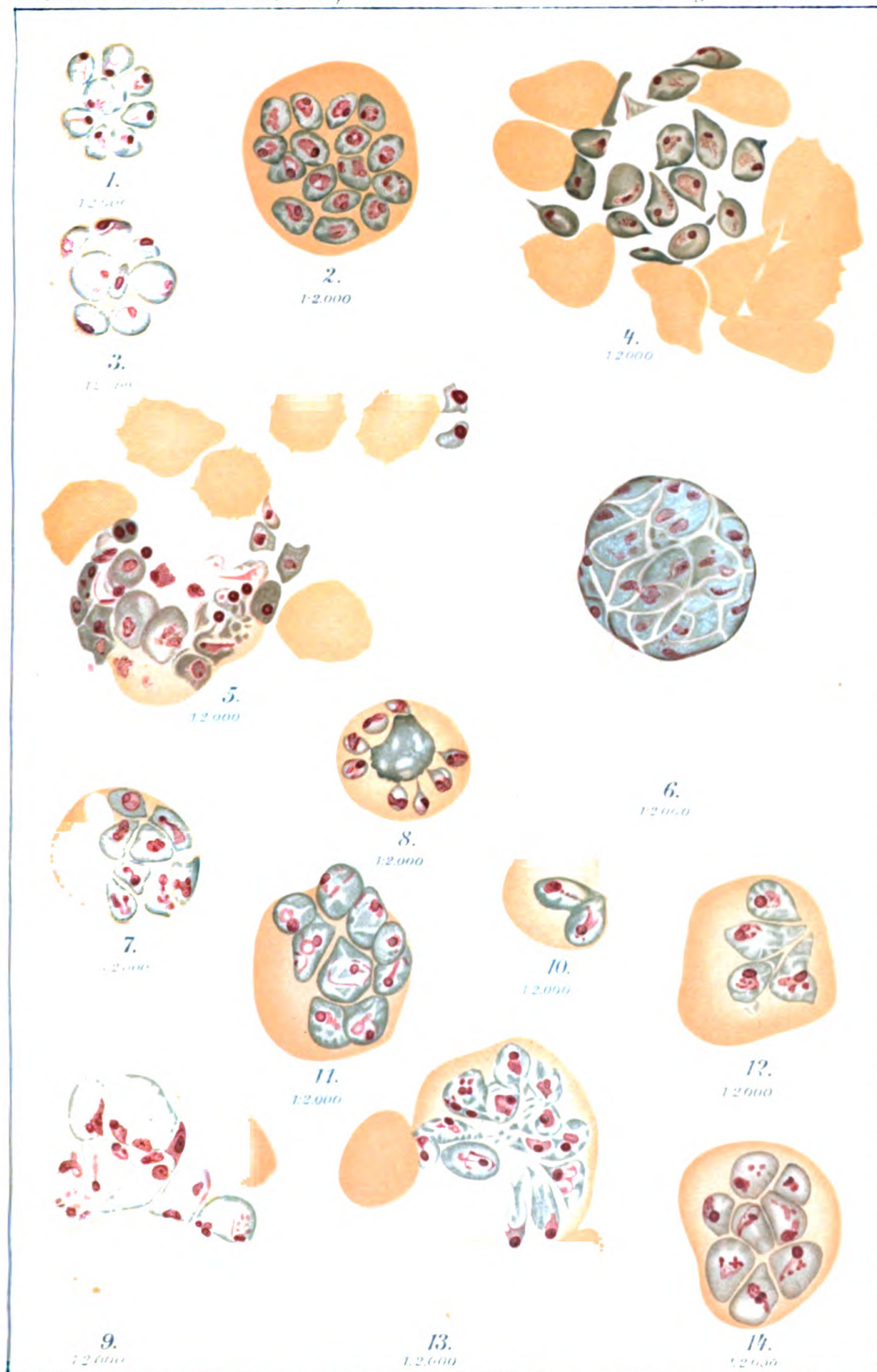
### Zusammenfassung der Ergebnisse von unseren mehr- maligen Züchtungen.

Während Sporulationsformen von *Babesia canis* im peripheren Blute mit mehr als 4 Merozoiten ziemlich selten sind, sieht man in 18 Stunden alten gelungenen Kulturen bei 37° C schon fast alle Schizogonieförmigkeiten mit 4 oder 8, nicht selten auch 16 und noch mehr Merozoiten. Wenn auch in den Originalkulturen sich viele Teilungsformen von Parasiten zeigten, blieb doch die Gesamtzahl der infizierten Erythrocyten auf einer bestimmten Zahl (= 50) möglichst gleichmäßig ausgewählter Gesichtsfelder eines Objektträgersausstriches bei unseren Züchtungsfällen fast die gleiche wie im Blute vor der Kultivierung. Deshalb haben wir anfangs angenommen, daß die Parasiten in der Kultur nur eine gewisse Weiterentwicklung durchgemacht haben. Nachher gelang uns die Züchtung einmal bis zur zweiten Subkultur, und in der Kultur wurde auch eine gewisse Vermehrung der infizierten Erythrocyten mittels der oben erwähnten Zählungsmethode festgestellt.

In den 2 Tage alten Kulturen und Subkulturen trat nur eine schwache Degeneration der Parasiten auf. Die infizierten Blutkörperchen und die Parasiten wurden auffallend größer, und es war Kern und Blepharoplast der Parasiten ganz deutlich getrennt zu sehen. Ferner fanden sich in den Kulturen freie Schizogonieförmigkeiten, welche wohl dadurch frei geworden waren, daß die roten Blutkörperchen sich aufgelöst hatten. Nach 3 Tagen hatten sich die freiliegenden Schizogonieförmigkeiten sehr vermehrt, und die meisten Merozoiten zeigten schon starke Degeneration.

Nach 4 Tagen haben sich die Parasiten fast alle aufgelöst, und es blieben nur vereinzelt rot gefärbte Kernhäufchen zurück. Nur selten waren sehr große, rundliche oder unregelmäßige freie Parasiten noch zu sehen.

Nach unseren Erfahrungen war es nicht so schwer, erste Kulturen



H. Sikora pinx.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

Kr  
zu erla  
werden  
Eckur  
D.  
und di  
betrad

1. Bas  
102.  
1. Vri  
Bab  
Bd.  
1. Z. er  
plas  
1. Anu  
Berl

Ein  
für  
[Au-  
Mo

I  
Mall  
Gerä  
anato  
ander  
geten  
Streu  
Vollk  
Mit I  
reals

zur  
Ger  
die  
alt  
Joh  
Gast

2-1  
/

A-2

2-1

zu erlangen, aber Subkulturen außerordentlich schwer. Die Subkulturen werden dabei am besten von 18 Stunden alten bei 37° C gehaltenen Kulturen angelegt.

Die Vermehrung der Parasiten ist aber stets nur eine geringgradige, und die Züchtungsmethode muß daher als eine noch recht unvollkommene betrachtet werden.

#### Literatur.

- 1) Bass, C. C., Successful cultivation of Malarial Plasmodia. (Journ. Am. Med. Ass. 1912. 21. Sept.)
- 2) Vrijburg, A., Einige Untersuchungen über Babesia bigemina. Versuche, die Babesia-Parasiten in vitro zu züchten. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 13. 1913. H. 3/4.)
- 3) Ziemann, H., Ueber die Kultur der Malariaparasiten und der Piroplasmen (Piroplasma canis) in vitro. (Arch. f. Schiff- u. Tropenhyg. Bd. 17. 1913.)
- 4) Knuth u. Richters, Ueber die Vermehrung von Piroplasma canis in vitro. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1913. No. 12.)

**Tafelerklärung** siehe in der Tabelle.

*Nachdruck verboten.*

## Ein Versuch der Anwendung der Immunitätsreaktionen für das Studium des biogenetischen Grundgesetzes<sup>1)</sup>.

[Aus dem Bakteriolog. Institut von G. N. Gabritschewsky an der Moskauer Universität (Direktor: Priv.-Doz. W. J. Kedrowsky).]

Von Dr. med. u. philos. **J. L. Kritschewsky**,  
Assistenten des Instituts.

Der Umstand einerseits, daß das biogenetische Grundgesetz von Müller-Haeckel ausschließlich auf rein morphologische Verhältnisse begründet war, die auf dem Wege embryologischer, vergleichend-anatomischer und paläontologischer Zusammenstellungen eruiert wurden, andererseits aber das Erscheinen einer ganzen Reihe von Arbeiten, angefangen vom letzten Dezennium des verflossenen Jahrhunderts, die gegen dieses Gesetz gerichtet waren, rechtfertigen unseres Erachtens vollkommen den Versuch, sich dem Studium des biogenetischen Gesetzes mit Hilfe eines so feinen Verfahrens zuzuwenden, wie es die Immunitätsreaktionen sind.

In Anbetracht dessen, daß die vorliegende Arbeit das Interesse nicht nur der Naturforscher im strengen Sinne des Wortes, sondern auch das der Aerzte erregen könnte, welche letztere ja hauptsächlich bis jetzt über die Fragen der Immunität gearbeitet haben, halten wir es für angebracht, auf der Formulierung des biogenetischen Gesetzes selbst und bei denjenigen kritischen Arbeiten stehen zu bleiben, deren Erscheinen durch dasselbe hervorgerufen war.

Haeckel<sup>2)</sup> hatte 1866 sein Gesetz in folgenden Sätzen formuliert: „Die Ontogenese, als die Reihe der Formveränderungen, welche jeder individuelle Organismus

1) Vortrag, gehalten auf dem XIII. Kongreß der russischen Naturforscher und Aerzte in Tiflis 1913.

2) Die Grundsätze, aus denen das biogenetische Gesetz besteht, sind von Müller auf Grund derjenigen Verhältnisse aufgestellt worden, welche er beim Studium der

während der gesamten Zeit seiner individuellen Existenz durchläuft, ist unmittelbar bedingt durch die Phylogenese oder die Entwicklung des organischen Stammes, zu welchem derselbe gehört.“

„Die Ontogenese ist die kurze und schnelle Rekapitulation der Phylogenese, bedingt durch die physiologischen Funktionen der Vererbung (Fortpflanzung) und Anpassung (Ernährung).“

„Das organische Individuum wiederholt während des raschen und kurzen Laufes seiner individuellen Entwicklung die wichtigsten von denjenigen Formveränderungen, welche seine Voreltern während des langsamen und langen Laufes ihrer paläontologischen Entwicklung nach den Gesetzen der Vererbung und Anpassung durchlaufen haben.“

„Die vollständige und getreue Wiederholung der phyletischen durch die biontische Entwicklung wird verwischt und abgekürzt durch sekundäre Zusammenziehung, indem die Ontogenese einen immer geraderen Weg einschlägt; daher ist die Wiederholung um so vollständiger je länger die Reihe der sukzessiv durchlaufenen Jugendzustände ist.“

„Die vollständige und getreue Wiederholung der phyletischen durch die biontische Entwicklung wird gefälscht und abgeändert durch sekundäre Anpassung, indem sich das Bion während seiner individuellen Entwicklung neuen Verhältnissen anpaßt; daher ist die Wiederholung um so getreuer, je gleichartiger die Existenzbedingungen sind, unter denen sich das Bion und seine Vorfahren entwickelt haben“<sup>1)</sup>.

Im Jahre 1895 wiederholt Haeckel in einer mehr konkreten Form die zwei folgenden Sätze:

„Durch zahlreiche und tiefeingreifende cenogenetische Störungen (Heterochronien, Heterotopien, Abkürzungen usw.) ist die Ontogenese des Menschen ebenso wie aller anderen Säugetiere so weit abgeändert worden, daß es oft großer Mühe und Vorsicht bedarf, um die bedeutungsvollen, darunter verborgenen palingenetischen Dokumente zu entdecken und zu würdigen“<sup>2)</sup>.

Ein Teil der Autoren erkennt bei der Kritik des biogenetischen Gesetzes in demselben zwei Seiten seiner Bedeutung nicht an, und zwar erstens als Methode der phylogenetischen Untersuchung und zweitens deren Möglichkeit als Theorie, und richtet eigentlich seine Einwiderungen nur gegen die Anwendung des Grundgesetzes zwecks der phylogenetischen Rekonstruktion (Oppel, Keibel, Mehnert).

Andere Autoren wieder erkennen den Wert des Gesetzes von Müller-Haeckel als Methode an, sprechen aber demselben die Bedeutung als Theorie ab (Emery, Garbowski, O. Hertwig).

Eine etwas gesonderte Stellung nimmt die Arbeit von Hensen<sup>3)</sup> ein (1891), da seine Argumentation einen rein metaphysischen Charakter trägt und der Gedankengang sich nach Keibels Ausdruck „durchweg außerhalb des Rahmens naturwissenschaftlicher Betrachtung“ bewegt. Er macht auf den Umstand aufmerksam, daß die Embryonen der entsprechenden Stadien bei verschiedenen Tieren in der Tat sich voneinander unterscheiden, die Ähnlichkeit aber ist diesem Autor zufolge nur eine scheinbare, bedingt durch die geringe Größe der Embryonen, welche es nicht gestattet, den Unterschied in ihrer Organisation zu konstatieren. Weiter jedoch widerspricht er sich selbst und gibt schon die Möglichkeit einer Ähnlichkeit in der Organisation der Embryonen verwandter Tiere zu. Diese Erscheinung erklärt aber Hensen durch teleologische Erwägungen; die Natur wählt für ihre Zwecke den besten Weg; der beste Weg ist aber immer ein und derselbe; daher geht die Entwicklung der Tiere nach einem Prinzip vor sich, und zwar nach dem vollkommensten; das biogenetische Gesetz spielt dabei gar keine Rolle.

Die metaphysische Argumentation von Hensen mit ihren unbegründeten Postulaten hat mit einer wissenschaftlichen Kritik gar keine Berührungspunkte; die erste kritische Arbeit ist eigentlich die von Oppel (1891)<sup>4)</sup>.

Vor ihm wurde das biogenetische Gesetz als eine vollkommen bewiesene Tatsache anerkannt, und, wie merkwürdig es auch erscheinen könnte, war bis 1891 keine einzige Arbeit veröffentlicht worden, die der Kontrolle dieses Gesetzes gewidmet war. Diese

Entwicklung der krebsartigen Tiere entdeckt hatte. Der Name „biogenetisches Gesetz“, dessen Verwertung in bezug auf verschiedene Gruppen des Tierreiches, die weitere wissenschaftliche Ausarbeitung und Entwicklung dieses Gesetzes, sowie auch dessen Anwendung bei der Konstruktion des Stammbaumes und die Aufklärung der verwandtschaftlichen Beziehungen im Tierreich stammen von Haeckel.

1) Haeckel, E., Generelle Morphologie der Organismen. 1866.

2) Haeckel, E., Systematische Phylogenie der Wirbeltiere. 1895.

3) Hensen, V., Die Planktonexpedition und Haeckels Darwinismus. 1891.

4) Oppel, A., Vergleichung des Entwicklungsgrades der Organe zu verschiedenen Entwicklungszeiten bei Wirbeltieren. 1891.

Tatsache kann nur durch den autoritätvollen Namen von Haeckel und außerdem dadurch erklärt werden, daß als Arbeitshypothese das biogenetische Gesetz eine Reihe von glänzenden Theorien ins Leben gerufen hatte, welche aus der Anerkennung dieses Gesetzes folgten (Theorie der Gastrula, Theorie der Homologie der Keimblätter, Theorie des Cöloms); es gab ferner Anlaß zu einer ganzen Reihe von Arbeiten sowohl des Autors dieses Gesetzes selbst, als auch anderer, die mit einer größeren oder geringeren Sicherheit die genetischen Verhältnisse im Tierreich aufklärten. Oppel selbst hat ganz richtig die Bedeutung seiner Arbeit gewürdigt, indem er schrieb: „Ich habe versucht, in dieser Arbeit für Theorien über die Stammesgeschichte der Wirbeltiere, welche bisher nur auf die einzelnen Beobachtungen gestützt waren und zum Teil noch in der Luft standen, durch Zusammenstellung und Besprechung eines umfassenden Materials Beweise zu erbringen.“ Auf Grund vergleichender Untersuchungen einer ganzen Reihe von Organen in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 28 Arten<sup>1)</sup> von Wirbeltieren, bestätigt der Autor die Richtigkeit des biogenetischen Gesetzes und spricht sich mit Haeckel dahin aus, „daß mit Sicherheit ein Vorfisch-, ein Fisch-, ein Landtier-, ein Protamnien-, und daran anschließend das ausgebildete Reptilien-, resp. Vögel- oder Säugtierstadium in der Ontogenie der Amnioten unterschieden werden kann“. Bei alledem weist Oppel darauf hin, daß die ontogenetischen Formen sich von den entsprechenden Formen der Vorfahren infolge der Anwesenheit zweier Prozesse unterscheiden können, die sich im Laufe der embryonalen Entwicklung abspielen, und zwar infolge von Heterochronien (das Erscheinen irgendeines Merkmals in der Ontogenese eines Individuums früher oder später, als in der entsprechenden phylogenetischen Form) und der embryonalen Substitution (der Ausfall einiger Frühmerkmale im Laufe der Ontogenese und deren Substitution durch in zeitlicher Beziehung spätere Merkmale.)

Somit sehen wir, daß (Oppel in der betreffenden Arbeit auf Grund eines umfangreichen Materials die Schlußsätze Haeckels bestätigt, und zwar beinahe mit denselben Ausdrücken; das Vorhandensein von Prozessen, die zuweilen den Parallelismus der embryonalen und phylogenetischen Formen maskieren, hindern Oppel nicht, die Richtigkeit der genialen Verallgemeinerung in vollem Maße anzuerkennen.

Auf den ersten Blick erscheint deshalb der schroffe Umschwung Oppels in bezug auf das biogenetische Gesetz um so unbegreiflicher, als derselbe vollkommen unmotiviert und durch keinerlei neue Befunde, die ihn erklären könnten, begründet war. Indem Oppel sich auf dieselben Fakta stützt, spricht er sich im Autoreferat seiner Arbeit absolut diametral entgegengesetzt aus über das, was er früher verteidigt hatte, „daß das Gesetz nicht aufrecht erhalten werden könne, da die Modifikationen schließlich dazu führen, daß das Gesetz nicht bestehe“, und weiter: „die Ontogenese ist nicht die Wiederholung der Phylogenie“<sup>2)</sup>. Ssewerzoff weist in betreff dieses Umschwunges in der Meinung Oppels mit Recht darauf hin, „daß diese Schlußfolgerung im Referat einer Arbeit etwas merkwürdig klingt, auf deren vorletzter Seite in der Ontogenese höherer Tiere Stadien vom „Vorfisch“, — „Fisch“ usw. aufgestellt werden. Wir glauben jedoch, eine Erklärung der Oppelschen Meinungsveränderung leicht finden zu können, indem wir den Standpunkt Ssewerzoffs akzeptieren, den er an einer anderen Stelle ausgesprochen hat. Ssewerzoff meint nämlich, daß die Frage des biogenetischen Gesetzes von zwei Seiten beleuchtet werden muß; das biogenetische Gesetz kann als heuristisches Prinzip dienen, mit Hilfe dessen die Morphologen die genetischen Beziehungen zwischen den gegenwärtigen und ausgestorbenen Tieren rekonstruierten — dies ist sozusagen die praktische Seite der Frage; andererseits hat aber die geniale Verallgemeinerung Haeckels eine kolossale theoretische Bedeutung, indem sie „den komplizierten Prozeß der embryonalen Entwicklung als Resultat eines mehr allgemeinen Evolutionsprozesses erklärt“. Von diesem Standpunkt aus kann auch das zweideutige Verhalten Oppels zum Gesetz von Müller-Haeckel verständlich werden; in der Arbeit selbst würdigt Oppel seine Befunde, indem er sich auf das biogenetische Gesetz als auf eine Theorie bezieht, im Autoreferat jedoch beleuchtet er dieselben Tatsachen von einem anderen Standpunkt aus. Nur bei einer solchen Erklärung wird es verständlich, weshalb Oppel sich als Anhänger des biogenetischen Gesetzes in ein und derselben Arbeit erklärt, in welcher gleichzeitig auf das Vorhandensein von Heterochronien und embryonaler Substitution hingewiesen wird. Für die Anerkennung des biogenetischen Gesetzes als eines Prinzips und Schemas, nach welchen die individuelle Entwicklung verläuft, ist das Vorhandensein der beiden obengenannten Prozesse absolut gleichgültig und stört nicht, nach dem Dominieren einer Reihe von wichtigen Merkmalen als sukzessiven Entwicklungsstadien schematisch, wie z. B. ein Vorfisch, ein Fisch, ein Landtier usw. festzustellen, weil von einem Schema ein genaues Ent-

1) Die von Oppel untersuchten Wirbeltiere gehörten allen Klassen des Typus an.

2) Oppel, A., Jahresber. üb. d. Fortschr. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. V. Schwalbe.

sprechen des schematisierten Gegenstandes nicht verlangt wird und nur die Grundmerkmale des letzteren wiedergegeben werden müssen. Ganz anders verhält sich die Sache, wenn man im biogenetischen Gesetz eine Methode sieht, mit deren Hilfe man die genetischen Beziehungen zwischen ausgestorbenen und gegenwärtigen Formen aufklären kann; hier tritt die Bedeutung der Heterochronien und anderer analoger Faktoren mit voller Klarheit in den Vordergrund, und wenn sie uns von der Unmöglichkeit der Benutzung des biogenetischen Gesetzes als einer Methode auch nicht ganz überzeugen, so machen sie doch jedenfalls das negative Verhalten Oppels und anderer Autoren ihm gegenüber verständlich. Keibel (1893 und 1895)<sup>1)</sup> vertritt eine ähnliche Meinung wie Oppel in seinem Referat. Keibel schreibt, „daß die zeitlichen Verschiebungen, man kann geradezu sagen, Durcheinanderschiebungen des Entwicklungsgrades der Organe bei Schweineembryonen so weit gehende sind, daß diese befriedigende Einteilung in die von Oppel vorgeschlagenen Stadien mir nicht möglich erscheint; deshalb glaubt er, „daß von einer Geltung des biogenetischen Grundgesetzes . . . nicht die Rede sein kann.“ Trotz dieser Anschauungen „zweifelt Keibel nicht daran, daß die Vorfahren der Säuger Stadien in ihrer Phylogenie durchgemacht haben, in welchen man sie zu den Fischen, dann solche, in welchen man sie zu den Amphibien und dann zu den Protamnioten rechnen müßte“; „er bestreitet auch nicht, daß sich in der ontogenetischen Entwicklung der heutigen Säuger Eigentümlichkeiten finden, welche durch die Macht der Vererbung aus jenem Stadium herübergerettet sind. Ja, man kann manche Vorgänge in der Ontogenie geradezu als Beweise dafür gelten lassen, daß die Säuger die eben charakterisierten Stadien durchgemacht haben.“ Wie erklärt sich dieser Widerspruch in den Meinungen auch dieses Autors? Wir glauben, daß die oben angeführte Erklärung betreffs der Oppelschen Arbeit auch hier mit ebendemselben Recht angewandt werden kann; auch Keibel erkennt nicht zwei Seiten des biogenetischen Gesetzes an.

Nach Keibel fehlen in der Ontogenese solche zeitlich voneinander abgetrennte Stadien, daß es uns möglich wäre, ein Stadium, z. B. auf den „Fisch“, das folgende auf die „Urodela“ usw. zu beziehen; am häufigsten besteht in jedem gegebenen Moment diesem Autor zufolge der Embryo aus Organen, die ihrer Entwicklung nach verschiedenen Vorfahren der betreffenden Art, phylogenetisch sowohl den frühen als auch den späteren, gehören. Keibel will damit sagen, daß der Embryo in jedem gegebenen Moment in größerem oder geringerem Grade eine Mosaik aus Organen und Merkmalen darstellt, welche zeitlich verschiedenen Vorfahren angehören. Aus diesem Grunde zieht er auch den Schluß, daß die individuelle Entwicklung keine Wiederholung der Phylogenese sei. Da aber ein aus einzelnen Bestandteilen zusammengesetztes Mosaikbild dennoch ein bestimmtes Ganzes darstellt, so kann man in einem gewissen Entwicklungsmoment auch im Embryo, trotz der Heterochronien und einer Reihe anderer analoger Faktoren, ein Stadium absondern, welches im allgemeinen dem einen oder anderen Vorfahren entspricht. Der ontogenetische Prozeß ohne paläontologische und vergleichend-anatomische Befunde ist vielleicht auch nicht imstande, den phylogenetischen Entwicklungsgang wiederherzustellen, jedoch kann man behaupten, daß der Prozeß der individuellen Entwicklung dieselben Etappen durchläuft, nach denen sich die betreffende Art entwickelt hatte.

Es scheint uns, daß es Mehnert war, der sich dem Verständnis der Quelle der Widersprüche in den Anschauungen der oben zitierten Autoren genähert hatte (1895, 1897 und 1898); dieser Autor sieht es klar ein, daß durch die oben angeführten Forscher das biogenetische Gesetz, als ein geniales Schema, welches die Beziehungen zwischen der Ontogenie und der Phylogenie in der von Haeckel gegebenen Formulierung aufklärt, keinerlei Verbesserung erfahren hatte.

Mehnert spricht sich dahin aus<sup>2)</sup>, daß die Kritiker des biogenetischen Gesetzes „den Umstand nicht in Betracht ziehen, daß bei einer derartigen Deutung dieses Gesetzes sie von ihren eigenen theoretischen Erwägungen ausgehen, wobei ihre Deutung sich mit der von Haeckel gegebenen Formulierung nicht deckt. Letztere spricht nun davon, daß die Ontogenie eine abgekürzte Phylogenie ist, setzt jedoch nicht voraus, daß sich alle Organe eines Tieres gleich rasch entwickeln, oder daß die Abkürzung der embryonalen Periode sich gleichmäßig auf alle Organe verbreitet“. Daher kommt Mehnert zu dem Schlusse, daß „das biogenetische Gesetz durch die Gegner desselben durchaus nicht erschüttert sei“. Was die Untersuchungen von Mehnert anbelangt, so

1) Keibel, J., Studien zur Entwicklungsgeschichte des Schweines. II. (Morphol. Arb. Bd. 5.) — Das biogenetische Grundgesetz und die Cenogenese. (Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. 7.)

2) Aus zufälligen Gründen konnte der Autor dieser Arbeit das Original der zitierten Arbeit nicht erhalten; die Auszüge sind der Uebersetzung von A. Ssewerzoff in seinen „Skizzen der Evolutionstheorie“ entnommen.



sind dieselben äußerst interessant und müssen hier angeführt werden. Bei der Ausarbeitung der Frage über die Ursachen der Heterochronie stellte dieser Autor fest, daß die regressiven Organe eines erwachsenen Tieres in ihrer Entwicklung verspäten, wobei ihre Anlage später zustande kommt und sie selbst sich langsamer entwickeln; im Gegenteil entwickeln sich diejenigen Organe, welche beim erwachsenen Tiere vollkommen funktionsfähig sind, schneller, wobei ihre Anlage früher geschieht. In Anbetracht einer derartigen Gesetzmäßigkeit stellt die Embryogenese einen Komplex von Organogenesen dar, welche sich in jedem gegebenen Fall mit verschiedenen, je nach ihrer phylogenetischen Evolution, und mit streng abgemessenen Schnelligkeiten entwickeln. Aus diesem Grunde kann man einen groben Fehler begehen, wenn man, wie es öfters geschieht, ein frei gewähltes Embryonalstadium mit dessen sich auf verschiedenen Entwicklungsstufen befindenden Organen für ein unverändertes Stadium der Phylogenie hält.“ Somit überträgt Mehnert das Prinzip der Rekapitulation auf einzelne Organe. Obgleich der zitierte Autor sich zu den Anhängern des Gesetzes von Müller-Haeckel zählt, ist es doch schwer, das biogenetische Gesetz als eine Methode der phylogenetischen Rekonstruktion mit der Verneinung der zeitlich voneinander getrennten zu vereinbaren. Gleichzeitig aber verhindern die von Mehnert aufgestellten Tatsachen nicht, das biogenetische Gesetz als eine theoretische Verallgemeinerung anzuerkennen. Dies wollte auch Mehnert wahrscheinlich gesagt haben.

Emery (1896) vertritt den Standpunkt, daß „es also in der Keimesentwicklung weder eine wirkliche Rekapitulation der Phylogenese, noch palingenetische und ceno-genetische Vorgänge in reelem Sinne gibt. Solche Ausdrücke dürfen eigentlich nur im bildlichen Sinn richtig gebraucht werden.“ Gleichzeitig glaubt Verf. daß durch die oben angeführten Erwägungen „der morphologische Wert der ontogenetischen Forschung durchaus nicht vermindert wird“<sup>1)</sup>, und in dieser Beziehung steht er auf einem ganz entgegengesetzten Standpunkte als die früher zitierten Autoren, die die Bedeutung des biogenetischen Gesetzes zwecks phylogenetischer Rekonstruktion entweder verneinten oder dieselbe in bedeutendem Maße einschränkten. Indem Emery dem biogenetischen Gesetz die Bedeutung einer Theorie abspricht, glaubt er, daß der Wechsel embryonaler Formen keine Wiederholung der phylogenetischen Entwicklungsgeschichte der Art ist, da der sukzessive Wechsel der ontogenetischen Formen einerseits das Resultat physikalisch-chemischer Bedingungen darstellt, andererseits der Ausdruck desjenigen Kampfes zwischen den alten und neuen Determinanten im Sinne Weismanns ist, welcher sich im Keimplasma abspielt und damit endet, daß die einen Keime von den anderen, für den Organismus nützlicheren, unterdrückt werden.

Das Objekt der Kritik von Garbowsky (1903)<sup>2)</sup> liegt in derselben Fläche wie beim vorhergehenden Autor; er hält auch das Prinzip der Rekapitulation für falsch, mit anderen Worten das Gesetz von Müller-Haeckel selbst als theoretische Verallgemeinerung, da diejenigen Theorien, welche als Folgen des biogenetischen Gesetzes erscheinen, nach den Befunden von Garbowsky nicht stichhaltig sind. Unserer Meinung nach liegt in dieser Argumentation von Garbowsky ein logischer Fehler, ein Syllogismus kann nur dann falsch sein, wenn diejenigen Sätze falsch sind, auf denen er basiert; der Autor hält den Grundsatz für falsch, nur deshalb, weil die Schlußfolgerungen desselben sich nicht bestätigt haben. Sind die Schlußfolgerungen falsch, halten die auf dem Müller-Haeckelschen Gesetz begründeten Theorien einer Kritik auch nicht stand, so müssen die Gründe dafür in einer anderen Gesichtsfäche gesucht werden, und wir pflichten durchaus Ssewerzoff bei, welcher schreibt: „vielleicht hat auch Garbowsky die Hypothese der Gastrula, der Keimblätter, des Mesodermas und Cöloms gestürzt (was mir persönlich zweifelhaft erscheint), von einer Widerlegung des biogenetischen Gesetzes kann auf Grund dieser Tatsachen nicht die Rede sein, denn diese Theorien können sich als falsch erweisen, nicht nur deshalb, weil sie auf der Verallgemeinerung von Haeckel begründet sind; vielleicht ist eine andere Annahme nicht richtig (wie nicht wenige Zoologen meinen), die mit diesen Hypothesen im innigen Zusammenhange steht, nämlich die Annahme einer monophyletischen Abstammung mehrzelliger Tiere? Vielleicht haben sich die verschiedenen Teile des Tierreiches polyphyletisch entwickelt? Vielleicht ist die Dauer der Rekapitulation abgegrenzt und je älter die Merkmale, in desto geringerem Grade wiederholen sie sich“?

Für uns erscheint besonders interessant die Kritik des biogenetischen Gesetzes von O. Hertwig (1906), weil er die Seite der Frage berührt, welche in einem gewissen Zusammenhange mit unserer Arbeit steht.

1) Emery, C., Gedanken zur Deszendenz- und Vererbungstheorie. (Biol. Centralbl. Bd. 16.)

2) Zit. nach Ssewerzoff.



Hertwig gibt, ebenso wie Emery, die Anwendbarkeit des biogenetischen Gesetzes aus praktischen Zwecken zu, erkennt aber nicht an, daß die ontogenetischen Formen eine Wiederholung ihrer phylogenetischen Vorfahren sind. Dieser Autor hält die Rekapitulation für eine nur scheinbare Tatsache, für den Ausdruck desjenigen Faktums, daß die Entwicklung in der Richtung vom Einfachen zum Komplizierten vor sich geht; es kann keine Wiederholung der Organisation der niedrigsten Vorfahren in der embryonalen Entwicklung eines höheren Tieres im wahren Sinne des Wortes geben, da die Geschlechtszelle und alle embryonalen Formen, die sich aus derselben entwickeln, in der Zusammensetzung ihres Idioplasmas von den entsprechenden phylogenetischen Formen unterscheiden, und nur mit dem Idioplasma der Art, der sie entstammen, vollkommen identisch sind. Wir müssen auch hier in Uebereinstimmung mit Mehnert sagen, daß Hertwig eigentlich einen Widerspruch gegen seine persönliche Auffassung des biogenetischen Gesetzes erhebt, nicht aber gegen die Verallgemeinerung von Müller-Haeckel. Der Begründer des biogenetischen Gesetzes berührte gar nicht die Frage über die Struktur des Idioplasmas; indem Müller und Haeckel das biogenetische Grundgesetz formulierten und sich über die Rekapitulation der ancestralen Formen in der Ontogenese aussprachen, hatten sie ausschließlich nur auf die morphologischen Beziehungen hingewiesen.

Um den Ueberblick des gegenwärtigen Standes der Frage über das biogenetische Gesetz abzuschließen, müssen wir noch die Meinungen von Ssewerzoff (1907, 1910, 1912) und von Sedgwick (1909) anführen, welche in den wichtigsten Punkten einander ähnlich sind.

Beide Autoren verlegen den Schwerpunkt ihrer Untersuchungen auf die Ontogenese einzelner Organe und nähern sich in dieser Beziehung einigermaßen der Mehnertschen Auffassung, der die Ontogenese des ganzen Organismus in die Ontogenese einzelner Organe zerlegt. Während aber Mehnert das Vorhandensein der Rekapitulation für jedes einzelne Organ im Laufe der embryonalen Entwicklung anerkennt, verneint Sedgwick absolut die Rekapitulation in der Organogenese, indem er das Prinzip „der embryonalen Veränderungen“ in den Vordergrund rückt; Ssewerzoff weist auf denselben Prozeß der „embryonalen Veränderungen“<sup>1)</sup> hin, „sieht aber in demselben kein allgemeines Prinzip, sondern nur eine der Formen der Organogenese, die neben der Rekapitulation der Organe besteht und in gewissen Fällen auch in dem Organ zum Vorschein tritt, wo sich der Rekapitulationsprozeß abspielt (Typus der Veränderungen der Endstadien der individuellen Entwicklung)“.

Wir haben schon mit genügender Bestimmtheit darauf hingewiesen, daß die so tiefgreifenden Erwiderungen von Hertwig das biogenetische Gesetz in der Formulierung Haeckels durchaus nicht untergraben, die es ja nur mit den morphologischen Beziehungen zu tun hat. Hertwig hat seine Aufmerksamkeit aber auf eine andere Seite der Frage über das biogenetische Gesetz gerichtet.

1) Was man unter dem Prinzip „embryonale Veränderungen“ verstehen soll, geht aus den Worten Ssewerzoffs selbst hervor: „man kann zwei Typen der Evolution konstatieren: der erste besteht darin, daß die neue phylogenetische Veränderung im individuellen Leben als eine Veränderung des Keimes des betreffenden Organs im frühen Stadium der embryonalen Entwicklung zum Vorschein tritt, wobei diese Veränderung sich im erwachsenen Zustande des Organs abspiegelt; dabei verändert sich der ganze Lauf der embryonalen Entwicklung des Organs und es kommt nicht zur Wiederholung der Evolutionsphasen der erwachsenen Vorfahren in der Ontogenese der Nachfolger. Beim zweiten Typus der Evolution gesellen sich zu den bei den Vorfahren existierenden Stadien der Ontogenese bei den Nachfolgern neue Stadien hinzu, wobei die Verlängerung der individuellen Entwicklung, welche hierbei eintreten muß, durch sekundäre Veränderungen der embryonalen Entwicklung kompensiert wird; die Wiederholung der Evolutionsphasen der Vorfahren tritt hier ein, aber in einer . . . . . veränderten Form.“

Er hat die Frage über das Idioplasma mit seiner in allen Stadien des Artlebens beständigen Zusammensetzung (nach Hertwig) in den Vordergrund gerückt, und verließ somit, ohne es vielleicht selbst einzusehen, den morphologischen Standpunkt, da ja das Idioplasma als ein ganz bestimmtes Substrat auch eine bestimmte chemische Zusammensetzung voraussetzt. Nur in diesem Fall wird der Begriff des Idioplasmas zur reellen Tatsache; der ohne bestimmte, für jede einzelne Art spezifische chemische Zusammensetzung denkbare Begriff vom Idioplasma erscheint als eine rein abstrakte Vorstellung unseres Denkens.

Die sogenannten Immunitätsreaktionen haben das Vorhandensein eines Unterschiedes in der chemischen Struktur des Protoplasmas verschiedener Arten mit absoluter Sicherheit festgestellt, und zwar von Arten, die einander sogar sehr nahe stehen. Die Bakteriologie ist reich an solchen Beispielen; es kann eventuell kein Unterschied zwischen dem Choleravibrio und einer Reihe der sogenannten choleraartigen Vibrionen weder in bezug auf ihre äußere Form, noch in bezug auf das Wachstum auf den Nährböden bestehen. Jedoch geben die Immunitätsreaktionen auch in diesem Fall, wo ein Auseinandergehen der Merkmale verwandter Arten weder in morphologischer, noch in physiologischer Beziehung angedeutet ist, die Möglichkeit, eine scharfe Differenzierung derselben durchzuführen. Neben der durch die Immunitätsreaktionen festgestellten Tatsache des Unterschiedes in den chemischen Eigenschaften des Protoplasmas der pflanzlichen Mikroorganismen haben die Untersuchungen von Tschistowitsch, Bordet, Ehrlich, Myers und einer langen Reihe anderer Autoren gezeigt, daß mit Hilfe der Immunitätsmethoden auch der Artunterschied der chemischen Eigenschaften höherer pflanzlicher und tierischer Organismen aufgeklärt werden kann.

Somit kann dank den Immunitätsmethoden der Umstand als sicher festgestellt gelten, daß das Protoplasma jeder Art seine bestimmte chemische Struktur besitzt, die sich von derjenigen einer anderen, ebensolcher Art unterscheidet, sei es daß letztere sich mit ihr auch in den intimsten verwandtschaftlichen Verhältnissen befindet.

Indem wir uns auf diesen Standpunkt stellen, glauben wir, daß der Begriff von Artidioplasma sich mit dem Begriff vom Protoplasma mit seiner für jede Art spezifischen chemischen Zusammensetzung deckt; inwieweit der Begriff vom Protoplasma als eines Komplexes einer für jede Art bestimmten chemischen Zusammensetzung gegenwärtig als absolut festgestellt gilt, insoweit wird auch jetzt der Begriff vom Artidioplasma zum reellen Faktum.

Leider ist die Immunitätslehre in die weiten Kreise der Naturforscher wenig eingedrungen, da sie ja eigentlich ihren Methoden nach in das Gebiet der Physiologie gehört und in ihrer historischen Entwicklung mit der medizinischen Bakteriologie als ein Abschnitt der allgemeinen Pathologie auf das innigste verknüpft ist. Aus diesem Grunde gibt es fast gar keine Arbeiten, die der Aufklärung der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen verschiedenen systematischen Einheiten des Tierreiches mittels der Anwendung der Immunitätsverfahren gewidmet sind, obgleich die systematischen Klassifizierungen nicht selten einen künstlichen Charakter tragen infolge der mangelhaften Ergründung der Phylogenese, da zuweilen weder vergleichend-anatomische noch embryologische Fakta imstande sind, die Lücken infolge der Unvollkommenheit der paläontologischen Ergebnisse auszufüllen. Da ich persönlich, meiner Spezialität nach, weit von denjenigen Disziplinen stehe, welche sich mit

dem Studium der systematischen Verhältnisse befassen, fällt es mir natürlich schwer, viele Beispiele der Künstlichkeit der systematischen Klassifikationen anzuführen. Jedoch wird es meines Erachtens genügen, wenn ich auf die Künstlichkeit der Klassifikation der Vögel hinweise, die die Mangelhaftigkeit der Anwendung früherer Methoden für die Konstruktion einer rationellen, auf der Phylognese basierenden Klassifikation in vollem Maße bestätigt. Welche Perspektive in dieser Beziehung die Immunitätsreaktionen eröffnen, ist aus einer Bruckschen<sup>1)</sup> Arbeit zu ersehen<sup>2)</sup>. Dieser Autor hatte mit Hilfe der Reaktion der Komplementablenkung festgestellt, daß der Mensch in bezug auf den Orang-Utang ebenso weit steht, wie die Cynomorpha (*Macacus rhesus*, *Macacus nemestrinus*), was auch denjenigen Daten entspricht, die die direkte Abstammung des Menschen von den gegenwärtigen Anthropoides<sup>3)</sup> verneinen; mit Hilfe derselben Reaktion entdeckte Bruck, daß die mongolische Rasse in verwandtschaftlicher Beziehung der kaukasischen näher steht als die malayische; dank der Immunitätsreaktion konnte nicht nur das Vorhandensein im Chemismus des Protoplasmas der Vertreter verschiedener Rassen einer Art, sondern auch der Unterschied in der chemischen Zusammensetzung des Protoplasmas bei den Stämmen ein und derselben Rasse festgestellt werden<sup>4)</sup>.

In der vorliegenden Untersuchung haben wir uns bemüht, die Frage aufzuklären, ob bei der Ontogenese in der chemischen Zusammensetzung des Protoplasmas sich diejenigen Prozesse und Veränderungen abspielen, welche im Bereiche der morphologischen Beziehungen im biogenetischen Gesetz von Müller-Haeckel formuliert sind.

Dabei mußte man von den allereinfachsten Beziehungen ausgehen, und wir glauben, daß für unseren Zweck die Forderung entspricht, daß die Ontogenese der zu untersuchenden Art außerhalb des mütterlichen Organismus vor sich gehen mußte, und daß ferner dem Embryo bei seiner Entwicklung möglichst wenig Nährsubstanzen zur Verfügung stünden, die ihm von den Eltern überlassen wurden; mit anderen Worten, wir halten für das passendste Objekt der Untersuchungen denjenigen Organismus, welcher seinen Entwicklungszyklus im freien Zustande durchläuft und während der Ontogenese seine Nahrung aus dem ihn umgebenden Milieu unter den Bedingungen eines Kampfes für das Leben sich selbst erwirbt.

Es erscheint uns sehr wichtig, daß der Embryo in dem Stadium, das für die Untersuchung gewählt wurde, nur aus Zellen besteht, die sich aus dem Keimdotter des befruchteten Eies, ohne Nährstoffe von den befruchteten Eltern zu erhalten, entwickelt haben; nur unter dieser Bedingung kann man sicher sein, daß der Versuch ausschließlich mit dem Protoplasma des Embryos angestellt ist und jegliche Beimischung von Eiweißstoffen elterlichen Ursprungs vermieden ist. Durch dieselben Er-

1) Bruck, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 37. Beih.

2) S. auch Dunbar, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 4.

3) Das Serum eines mit dem Orang-Utan serum immunisierten Kaninchens ergab Hemmung der Hämolyse mit dem Menschenserum in Verdünnung von 1:200 und in derselben Verdünnung mit den Sera des *M. rhesus* und *nemestrinus*. Mit dem als Antigen dienenden Serum gab es Komplementablenkung in Verdünnung von 1:1000, mit dem *Hylobates*-Serum in Verdünnung von 1:800.

4) Das Serum eines mit dem Blut eines Holländers immunisierten Kaninchens gab Komplementablenkung mit dem Blut dieses Holländers in Verdünnung von 1:1000, mit dem Blute eines Arabers in Verdünnung von 1:900, mit dem eines Chinesen 1:700, mit dem eines Malayen aber in Verdünnung von 1:500.

wägungen ist auch die Forderung motiviert, daß die embryonale Entwicklung außerhalb des mütterlichen Organismus verlaufen soll.

Diesen Forderungen entspricht vollkommen die Ontogenese der Vertreter der Anura. In unseren Versuchen benutzten wir die Embryonen der *Rana esculenta* in einem Entwicklungsstadium, das seinen morphologischen Merkmalen nach den Vertretern der Urodela<sup>1)</sup> entspricht.

Mit Hilfe der Immunitätsmethoden muß überhaupt und zunächst die Frage aufgeklärt werden, einerseits in welchen Beziehungen die chemischen Eigenschaften des Protoplasmas des obenerwähnten Stadiums der *Rana esculenta* zu denjenigen der elterlichen Form stehen, andererseits aber zum Chemismus des Protoplasmas eines der gegenwärtigen Vertreter der Urodela, als einer Form, die dem von uns gewählten Stadium des Froschembryos entspricht, z. B. der Molche (*Triton cristata*), welche Art wir auch benutzten. Wenn die chemischen Eigenschaften des Protoplasmas des Embryos sich mit dem Protoplasma der elterlichen Art nicht identisch erweisen, so geht daraus hervor, daß das Gesetz von Müller-Haeckel sich auch auf das Gebiet der chemischen Beziehungen erstreckt; ist dies der Fall, so muß bei der Anwendung des biogenetischen Gesetzes auch auf diesem Gebiet vorerst die chemische Verwandtschaft des Protoplasmas des *Rana*-Embryos mit der erwachsenen Molchform aufgeklärt werden, was wir übrigens im weiteren noch ausführlich besprechen werden.

Für die Beantwortung der aufgestellten Fragen wählten wir die empfindlichste Immunitätsreaktion, nämlich die der Komplementablenkung, welche es ermöglicht, in weitem Maßstabe das quantitative Prinzip durchzuführen.

Bei der Herstellung der Antigene benutzten wir die Tiere in toto, da es unumgänglich nötig war, mit den Befunden der oben zitierten Autoren zu rechnen, die ergeben haben, daß ein Embryo aus Organen zusammengesetzt ist, die sich in zeitlich verschiedenen Stadien der Organogenese befinden; der von uns gewählte Weg der Herstellung der Antigene entsprach aus diesem Grunde unserer Aufgabe mehr als die Anwendung des Blutserums als Antigen, dessen Gewinnung mit einer verhältnismäßig großen Menge mit Schwierigkeiten verbunden ist, die sich aus der geringen Größe der Versuchsobjekte, zumal der Larve von *Rana esculenta* ergeben.

Die Tiere wurden getrocknet (die Larven der *Rana esculenta* in toto, die Frösche und die Molche vorerst in Teile zerschnitten) im Vacuumapparat, darauf in feines Pulver zerrieben und in diesem Zustande bis zur Herstellung des Antigens aufbewahrt. Darauf wurden 5 g des Pulvers mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung übergossen, unter Zusatz von 0,5 Proz. Phenol, und die Aufschwemmung im Schüttelapparat 48 Stunden geschüttelt, dann einem fünfmaligen Gefrieren und Auftauen unterzogen und schließlich wieder 24 Stunden geschüttelt; zum Schluß wurde die Aufschwemmung abfiltriert, im Notfall zentrifugiert und die Flüssigkeit als Antigen sowohl für die Immunisation der Tiere als auch für die Ausführung der Reaktion selbst benutzt. Für den letzten Zweck diente als Titer des Antigens die Hälfte derjenigen Menge

1) Die Kaulquappen in dem von uns gewählten Entwicklungsstadium befanden sich im Alter von 9 Wochen. Die vorderen Extremitäten erkennt man noch nicht. Die hinteren Extremitäten sind gut entwickelt, weisen Glieder auf und tragen Zehen. Die Kaulquappen erhoben sich oft zur Oberfläche des Wassers (Lungenatmung).

desselben, welche an und für sich keine Hämolyse mehr hervorrief. Vor jedem Versuch (am vorhergehenden Tage) wurde der Titer kontrolliert, eine Vorsichtsmaßregel, die im Hinblick auf die Veränderlichkeit unserer Antigene unumgänglich notwendig ist; der Titer des Antigens wurde ebenfalls, auch am Tage des Versuchs, sowie letzterer selbst kontrolliert.

Für die Herstellung immuner Sera in bezug auf die Kaulquappe der *Rana*, erwachsener Frösche und Molche benutzten wir Kaninchen mit einem Gewicht nicht unter 2500 g<sup>1)</sup>. Einige Kaninchen vertrugen die Immunisation mit den Eiweißstoffen der Kaltblüter schlecht und gingen vor der Beendigung der Immunisationsperiode zugrunde. Ein Teil der Kaninchen wurde in 5-tägigen Intervallen, ein anderer alle 2 Tage immunisiert; sowohl die einen als auch die anderen erhielten das Material intravenös injiziert, jedes einzelne 5mal à 1, 2, 4, 6 und 8 ccm. 8–10 Tage nach der letzten Injektion totaler Aderlaß durch die Art. carotis; das gewonnene Serum wurde im Vakuumapparate getrocknet.

In allen Momenten der Herstellung der Antigene bei der Immunisation der Tiere und bei der Anstellung der Reaktion wurde auf das strengste darauf geachtet, daß die Geschirre und die Instrumente, die immer in sterilem Zustande zur Anwendung kamen, nicht verwechselt wurden.

Vor dem Versuche selbst wurde das Komplement des Meerschweinchens in Verdünnung von 1:10 austitriert und für die Reaktion die Dosis genommen, welche derjenigen Dosis folgte, die nach  $\frac{1}{2}$  Stunde eine vollkommene Hämolyse von 1 ccm einer 5-proz. Erythrocytenaufschwemmung nach dem Ausfall in 5 ccm des allgemeinen Gehaltes der Flüssigkeit im Reagenzglase ergab. Das hämolytische Serum gegen die Hammelerythrocyten kam in dreifachem Titer in einer beständigen Menge (1 ccm) zur Anwendung. Vor dem Zusatz des hämolytischen Systems kamen die Reagenzgläser für 1 Stunde in den Brutschrank und nach dem Zusatz wieder für 1 Stunde. Das Resultat des Versuchs wurde am anderen Morgen nach der Aufbewahrung der Gläschen im Eiskeller (+ 5°) notiert.

Die Reaktion der Komplementablenkung wurde nach der von Dean<sup>2)</sup> vorgeschlagenen Methode ausgeführt. Dieselbe besteht im wesentlichen darin, daß in jedem Versuch 4 Reihen von Reagenzgläschen aufgestellt werden; in jeder Reihe ist die Menge des Antigens konstant, das Serumquantum aber in jedem nächstfolgenden Glase verringert sich um eine gewisse Größe (wir benutzten zu 1 ccm Serum in absteigenden Konzentrationen, die in den Tabellen angegeben sind); das Antigen wird in der ersten Reihe in einer seinem Titer gleichen Menge genommen, in jeder nächstfolgenden Reihe in einer um das Doppelte verringerten. Das Resultat der Reaktion notierten wir zwecks größerer Anschaulichkeit der Protokolle ebenfalls nach Dean<sup>3)</sup>, jedoch mit einer kleinen Modifikation. (S. Beilagen).

Unsere Ergebnisse basieren auf drei Versuchsserien; jede derselben enthält Versuche mit drei Immunseris von Kaninchen, die mit den Embryonen der erwachsenen Form der *Rana esculenta* und mit der erwachsenen Form der Molche immunisiert waren. Anfangs wurden

1) Kaninchen geringeren Gewichts sind für die Anwendung unbequem in Anbetracht der verhältnismäßig großen Serummengen, die für die Versuche nötig sind.

2) Zitiert nach Bayon, Transact. of the Soc. of Tropical Med. and Hyg. Vol. 5

3) Dean, H., The Journ. of Hyg. Vol. 12. No. 3.

## A. Erste Serie der Vers

I. Antigen: Rana-Embryo mit dem Serum  
des Kaninchens No. 93, welches mit der er-  
wachsenen Form (Imago) der Rana escu-  
lenta immunisiert war.

IV. An  
mit den

## 1) Antigen No. 1. Titer 0,8.

Serum- menge	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{12}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{21}$	$\frac{1}{24}$	$\frac{1}{27}$	$\frac{1}{30}$
Reihen I	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Reihen II	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Reihen III	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Reihen IV	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

Serum- menge	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$
Reihen I	■	■
Reihen II	■	■
Reihen III	■	■
Reihen IV	■	■

## 2) Antigen No. 2. Titer 0,5.

Serum- menge	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{12}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{21}$	$\frac{1}{24}$	$\frac{1}{27}$	$\frac{1}{30}$
Reihen I	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

Serum- menge	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$
Reihen I	■	■

er-  
such  
aber

sein-  
wir  
wo  
von  
uche  
tiere  
tiert,  
sich-  
siner  
ver-  
der  
chen  
Ver-  
das  
sich  
eren  
Auf-  
Bin-

siner  
leren  
nge-

ren-  
aften  
smas  
den-  
des  
Be-  
Rede  
iedes  
mit  
auch  
tann.  
aus  
Ta-  
der  
Em-

der  
und  
ellen,  
nene  
Em-  
nicht  
ittel-  
tigen  
der

vergangen geologischen Aera, die in verschiedenen

desselbe  
jedem V  
eine Vor  
Antigene  
ebenfalls

Für

Rana,  
einem G  
Immuni  
vor der  
Kaninch  
munisie  
intraven  
Tage na  
das gew

In

sation  
strengst  
immer  
wurden

Vo

chens i  
Dosis  
Stunde  
cytenau  
haltes  
gegen  
ständig  
lytische  
schränk  
Versuch  
Gläser

Di

vorgese  
darin,  
werden  
quantu  
gewisse  
zentrat  
in der  
in jed  
Das R  
keit d  
Modifil

U

enthält  
Embry  
erwach

1)

betrach

2)

3) Dean, M., The Journ. of Hyg. Vol. 12. No. 3.

die Versuche mit den Seris der ersten Serie angestellt, darauf die erhaltenen Resultate mit zwei Serumserien nachgeprüft. Jeder Versuch wurde immer in allen Serien wiederholt; in den Tabellen sind aber nur die Originale der Versuche angeführt.

Bevor wir die aus unseren Versuchen folgenden Resultate auseinandersetzen, die in Protokolltabellen zusammengefaßt sind, müssen wir darauf hinweisen, daß nur diejenigen Versuche verglichen werden, wo entweder das Antigen das gleiche ist, oder das Serum Antikörper von gleicher Stärke enthält; mit anderen Worten, nur diejenigen Versuche können nebeneinandergestellt werden, wo entweder die Sera einem Tiere angehören oder die Antigene mit ein und derselben Nummer markiert, d. h. eines Ursprungs sind, sowohl im Sinne der Art als auch der Gleichzeitigkeit der Herstellung und der Stärke des Titors. Die aus einer gleichen Stoffmenge und nach ein und derselben Methode, aber zu verschiedenen Zeiten hergestellten Antigene unterscheiden sich voneinander in der Fähigkeit, die Antikörper zu binden. Die Forderung eines gleichen Index des Titors ist bedingt durch dieselbe Notwendigkeit, für den Vergleich der Versuche Reaktive von gleicher Stärke zu besitzen, da das Antigen ein und derselben Nummer, aber mit verändertem Titer, an sich kein Reagens darstellt, welches die gleiche, im Vergleich zum früheren Titer, Fähigkeit besitzt, Antikörper zu binden, da wir uns bei der Aufstellung des Titors an die Fähigkeit des Antigens zur spezifischen Bindung nicht halten.

Auf Grund des oben Erwähnten kann somit irgendein Versuch einer Serie in der vorliegenden Untersuchung mit dem Versuche einer anderen Serie nicht verglichen werden; dies ist nur in dem Rahmen der angeführten Forderungen möglich.

Oben wurde erwähnt, daß für die Aufklärung der uns interessierenden Frage die Feststellung des Verhaltens der chemischen Eigenschaften des Protoplasmas des *Rana*-Embryos zu denjenigen des Protoplasmas seines Imago von der größten Wichtigkeit ist, da ja im Fall der Identität der chemischen Eigenschaften beider von der Uebertragung des Müller-Haeckelschen Gesetzes auf das Gebiet der chemischen Beziehungen zwischen der Ontogenese und der Phylogenese keine Rede sein kann. Im Gegenteil würde die Beweisführung eines Unterschiedes im Chemismus des Protoplasmas des Embryo und seines Imago mit absoluter Sicherheit dafür sprechen, daß das biogenetische Gesetz auch auf das Gebiet der chemischen Beziehungen übertragen werden kann. Die von uns erhaltenen Ergebnisse, wie dies in jeder Versuchsserie aus dem Vergleich der Protokolle — Tabelle I mit den Versuchen der Tabelle III, sowie auch derjenigen der Tabelle II mit den Daten der Tabelle VIII hervorgeht, zeigen deutlich, daß das Protoplasma des Embryo mit dem Protoplasma der elterlichen Art nicht identisch ist.

Indem wir die Wechselbeziehungen zwischen dem Embryo der *Rana* mit dem gegenwärtigen Vertreter der Urodela einerseits und zwischen dem Embryo und seinem Imago andererseits gegenüberstellen, dürfen wir die Tatsache nicht außer acht lassen, daß die angenommene Identität des Chemismus des Protoplasmas der Urodela und des Embryo in dem gewählten Entwicklungsstadium selbstverständlich nicht die gegenwärtige Form der Urodela voraussetzt, sondern den unmittelbaren geologischen Vorfahren der *Rana*. Sowohl die gegenwärtigen *Anura*, als auch die Urodela sind Nachfolger der Urodela der vergangenen geologischen Aera, die in verschiedenen Richtungen diver-



gieren; aus diesem Grunde schien uns auch a priori die Hoffnung, Befunde in dem oben angeführten Sinne zu erhalten, als ziemlich problematisch.

Durch die Bedingungen des Versuchs, bei dem nur die gegenwärtigen Formen zur Anwendung kommen konnten, eingeschränkt, erblicken wir das Experimentum crucis der ganzen Untersuchung nur in den oben angeführten Befunden, welche den Unterschied im Chemismus des Protoplasmas des Embryo und seines Imago feststellen. Aus dem Vergleich in jeder Versuchsserie der Tabelle I mit den Versuchen in Tabelle IV, sowie auch der Ergebnisse der Tabellen II und V geht hervor, daß der Embryo der *Rana* in dem von uns gewählten Stadium der Ontogenese der chemischen Zusammensetzung seines Protoplasmas nach in genetischer Beziehung der erwachsenen *Rana*-Form näher steht, als den Molchen. Diese Befunde können durch die oben angeführten Erwägungen erklärt werden, wobei wir auch mit den von Keibel festgestellten Tatsachen rechnen müssen und voraussetzen, daß der Embryo, ein Komplex von Organen, die sich in zeitlich verschiedenen Stadien der Ontogenese befinden, vorstellend, in dem von uns gewählten Entwicklungsstadium schon größtenteils aus Organen bestand, die ihrem Chemismus nach denjenigen der *Anura* näher stehen, als dem *Urodela*.

Durch die Befunde, welche aus dem Vergleich der Tabelle I und V mit den Versuchen der Tabelle VII hervorgehen, wird die Meinung bedingt, daß als Allgemeinverfahren sowohl der gegenwärtigen *Anura*, als auch der *Urodela* eine phylogenetische Form erscheint, die entweder identisch oder den chemischen Eigenschaften ihres Protoplasmas nach dem Embryo in dem von uns gewählten Stadium nahe ist, das die embryonale Form der chemischen Zusammensetzung ihres Protoplasmas nach demjenigen der Molche und des Frosches näher steht, als die beiden letztgenannten Arten zueinander.

Die Resultate der vorliegenden Untersuchung stehen im Widerspruch zu den Prioritätserwägungen, die uns vor Beginn der Arbeit als Leitschnur dienten; wir müssen sie auseinandersetzen, da wir im Zusammenhange mit denselben und den oben erwähnten Ergebnissen noch weitere Versuche anstellen, die sich an das Thema der vorliegenden Arbeiten anlehnen.

Wir nahmen an, daß im Protoplasma des Embryo während der individuellen Entwicklung keine Veränderungen im Chemismus in dem Sinne vor sich gehen, wie es Müller-Haeckel für die morphologischen Beziehungen formuliert haben; wir waren der Meinung, daß sowohl die Geschlechtsprodukte irgendeiner Art, als auch die aus der Vereinigung derselben entstandenen Zellen des Embryo im Laufe der Ontogenese unverändert bleiben und in ihrer chemischen Artstruktur den Zellen des Organismus, dem sie entstammen, gleich sind. Unseres Erachtens war diese Meinung logisch, da sie auf der Tatsache beruht, daß alle Zellen des Organismus, trotz einiger Unterschiede in ihrer chemischen Zusammensetzung in der Artbeziehung chemisch gleich sind; die Geschlechtszellen, als Produkte und Bestandteile des Organismus dürfen sich in den chemischen Arteigenschaften von den übrigen Zellen des betreffenden Organismus nicht unterscheiden; daraus die logische Schlussfolgerung, daß auch das Protoplasma des Embryo sich in allen Stadien der Ontogenese in seinem Chemismus vom Protoplasma der elterlichen Art nicht unterscheiden darf.

Mit dieser Präsumption gingen wir auch an unsere Arbeit, indem wir uns zur Aufgabe stellten, auf experimentellem Wege mit Hilfe der Immunitätsmethoden die oben angeführten logischen Sätze nachzuprüfen. Die Ergebnisse der Untersuchungen führten uns zu ganz entgegengesetzten Resultaten, indem sie nochmals zeigten, daß im Gebiet der Naturwissenschaften Voraussetzungen, wie wahrscheinlich sie auch einem vorkommen, keinen festen Boden haben.

Im Zusammenhange der von uns erhaltenen Befunde treten zwei Fragen auf: Sind die Geschlechtszellen verschiedener Tiere chemisch identisch und welcher Art sind die chemischen Beziehungen der Geschlechtszellen zu den somatischen Zellen desselben Organismus?

Der logische Schluß aus den von uns in dieser Arbeit erhaltenen Resultaten lautet, daß die Geschlechtszellen verschiedener Tiere in chemischer Beziehung gleich sind. Entspricht dieses aber der Wirklichkeit oder umgekehrt, sind die Geschlechtszellen der Tiere in dieser Beziehung verschieden? Wenn die Geschlechtszellen der Tiere untereinander in chemischer Beziehung gleich sind, ob sie sich von den somatischen Zellen des elterlichen Organismus, wie man dieses voraussetzen muß, unterscheiden, oder nicht? Zur Aufklärung dieser Fragen sind von uns Versuche angestellt worden, von denen später berichtet werden wird; in den nächstfolgenden Zeilen möchten wir uns nur einige Erwägungen erlauben, die in direktem Zusammenhang mit dem Thema der vorliegenden Arbeit stehen. Aus der Uebertragung des biogenetischen Gesetzes auch auf das Gebiet der chemischen Beziehungen zwischen der Ontogenese und der Phylogenese muß auch der logische Schluß von der Identität der chemischen Zusammensetzung der Geschlechtszellen der Tiere<sup>1)</sup> gezogen werden, oder genauer gesagt des Dotters der Geschlechtszellen; in diesem letzten Umstande kann auch die Schwierigkeit der experimentellen Beweisführung der chemischen Identität der Geschlechtszellen und ihres Unterschiedes von den somatischen Zellen liegen, da es wohl unmöglich ist das Nährdotter, zuweilen auch die sekundären Häute vom Substrat der Arteigenschaften — des Keim Dotters abzutrennen, wenigstens in dem Maße, wie es die Methode der Immunitätsreaktionen fordert. Die Anwesenheit der sekundären Häute und des Nähr Dotters, die ihrem Ursprung nach das Produkt der somatischen Zellen darstellen, kann als Hindernis für die Lösung der gestellten Fragen dienen und als einziger Beweis des Unterschiedes in der chemischen Natur der Geschlechtszellen und der somatischen kann nur durch die von uns festgestellte Tatsache des Unterschiedes im Chemismus des Embryo und der elterlichen Form erbracht werden, eine Tatsache, welche ausschließlich nur damit erklärt werden kann, wenn man den gleichen Chemismus des Keim Dotters und dessen Unterschied vom Chemismus der somatischen Zellen zugibt; mit der Furchung befreit sich die befruchtete Eizelle vom Nährdotter und wir können uns vielleicht nur unter diesen Bedingungen vom Unterschiede des Chemismus der Geschlechts- und der somatischen Zellen überzeugen und daraus auch von der Identität der Geschlechtszellen verschiedener Tiere.

Die festgestellte Tatsache der Uebertragung des biogenetischen Gesetzes auf das Gebiet der chemischen Beziehungen zwischen der

1) Wenn man den Standpunkt des monophyletischen Ursprungs der Tierwelt vertritt.

Phylogense und der Ontogenese kann als Beweis der Richtigkeit der Müller-Haeckelschen Verallgemeinerung dienen.

Es ist uns eine angenehme Pflicht, dem Direktor des Instituts, Herrn Priv.-Doz. Dr. W. Kedrowsky, unseren herzlichen Dank für seine Unterstützung und sein Entgegenkommen bei der Ausführung der Arbeit auszusprechen.

*Nachdruck verboten.*

## Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus.

[Aus d. Institut f. Schiffs- u. Tropenkrankheiten in Hamburg. Leiter: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht.]

Von S. v. Prowazek.

Mit 3 Figuren im Text.

Die Immunitätsverhältnisse bei der Variolavaccine sind trotz verschiedener, eingehender Arbeiten noch weit von dem Stadium einer gewissen Grenzerkenntnis entfernt; vor allem ist die Grundfrage, ob eine vollständige allgemeine Immunität bei der Variolavaccine vorkommt, oder, was wahrscheinlicher ist, ob nur eine graduell sich verschiebende Partialimmunität einzelner Histogenbezirke besteht, noch nicht entschieden.

Die Beziehungen der Hornhautimmunität bei einer Vaccineinfektion zu der auf intravenösem, kutanem und subkutanem Wege erreichten allgemeinen Immunität des Versuchstieres sind neueren Untersuchungen von W. Grüter<sup>1)</sup> zufolge insofern in ein anderes Licht gerückt worden, als nach diesem Autor im Gegensatz zu den früheren Angaben nach einer subkutanen, kutanen und intravenösen Immunisierung der Hornhaut doch ein „gewisser“ Impfschutz verliehen wird.

Diese Verschiedenheit der Versuchsergebnisse wäre zunächst aus der verschiedenen Versuchstechnik zu erklären, wie dies auch Paschen<sup>2)</sup> getan hatte, indem Grüter eben wiederholte immunisierend wirkende Injektionen von Vaccinevirus vornahm und die Nachimpfung mit verdünnter (1:1000) Lymphe durchführte. — Bei meinen Nachuntersuchungen ging ich zunächst von der Annahme aus, daß die eigenen, zeitlich nun fern liegenden Versuche vielleicht doch fehlerhaft waren, und ich nahm sie in der ursprünglichen Fassung wieder auf, d. h. die Kaninchen wurden auf kutanem, subkutanem oder intravenösem Wege einmal infiziert, nach Feststellung der eventuellen allgemeinen Immunität mit unverdünnter Lymphe an den Augen nachgeimpft, worauf auf Grund von Ausstrichpräparaten, die nach der neuen, damals noch nicht bekannten Giemsa-Azetonmethode gefärbt worden sind, jedesmal das für die Beurteilung unerläßliche Guarrierische Phänomen festgestellt wurde.

1) Grüter, Dr. W., Kritische und experimentelle Studien über die Vaccineimmunität des Auges etc. (Arch. f. Augenheilk. Bd. 70. 1911. H. 3/4.)

2) Paschen, E., Ueber die Erreger der Variolavaccine. (Handb. d. Techn. u. Method. d. Immunitätsforsch. Ergänzungsbd. 1. 1910. p. 501.)

## I. Impfung der einen Kaninchencornea; Nachimpfung der anderen Hornhaut.

## 1) Schwarzes Kaninchen:

rechtes Auge 16. Aug. inf. 19. Aug. Guarnierisches Phänomen. 6. Sept. Rücken infiziert; undeutliche Reaktion.

linkes Auge 13. Sept. inf. 16. Sept. starke Phagocytose; Guarn. Ph.

Das Serum des Kaninchens wurde am 3. Sept. und 25. Sept. auf die parasitizide Kraft geprüft (d. h. 0,1 Serum inakt. + 0,1 Komplement + 0,1  $\frac{1}{2}$  Lymphe auf 24 Stunden zusammengebracht und hernach verimpft); in allen Fällen positives Guarnierisches Phänomen (G. Ph.). Vom rechten Auge aus erfolgte unter diesen Versuchsbedingungen demnach keine Allgemeinimmunisierung des Tieres.

## 2) Weißes Kaninchen:

rechtes Auge 10. Okt. inf. 12. Okt. G. Ph.

linkes Auge 27. Nov. inf. 30. Nov. G. Ph.

27. Dez. auf dem Bauche infiziert; 4. Febr. noch Reaktion, während die Kontrollverletzungen am 1. Febr. abgeheilt waren. Resultat wie bei Kaninchen I.

## II. Subkutane einmalige Injektion; Nachimpfung der Augen.

## 1) Braunweißes Kaninchen erhielt 1 ccm von 3 Röhrchen frischer Lymphe auf

3 ccm physiologischer Kochsalzlösung; 15. Aug. subkutan; 16. Aug. Haare auf dem Rücken ausgerupft (Calmette-Guérinscher Versuch).

17. Aug. geringe Reaktion, die am 19. Aug. verschwindet.

6. Sept. Rücken nachgeimpft. Reaktion = 0.

13. Sept. linkes Auge geimpft; 16. Sept. G. Ph.

2. Okt. rechtes Auge „ 7. Okt. starkes G. Ph.

Das Serum wurde am 23. Aug., 3. Sept., 25. Sept. wie oben angegeben geprüft; in allen Fällen wurde ein deutliches Guarnierisches Phänomen erzielt.

## 2) Hasenkaninchen:

10. Okt. 1 ccm Lymphe wie oben; eine Allgemeinimmunität der Hautdecke wurde festgestellt.

27. Okt. rechtes Auge nachgeimpft.

28. Okt. wurde das Tier verletzt und mußte getötet werden. In den Cornea-schnitten wurden junge Guarnierische Körperchen nachgewiesen.

Durch eine einmalige subkutane Injektion von Vaccine wurde zwar eine Immunität der Hautdecke, nicht aber eine deutliche Serumimmunität sowie Immunität der Cornea erreicht.

## III. Intraperitoneale Vaccineinjektion: 3 Röhrchen frischer Lymphe auf 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt; 1 ccm injiziert.

## 1) Gelbes Kaninchen:

16. Aug. injiziert.

6. Sept. Rücken nachgeimpft; 9. Sept. leichte Rötung.

13. Sept. linkes Auge nachgeimpft; 15. Sept. G. Ph. positiv.

2. Okt. rechtes Auge „ 4. Okt. geringe Reaktion. 7. Okt. ?

10. Okt. zum zweiten Male nachgeimpft; deutliches Guarnierisches Phänomen, positiv.

Auch nach einer intraperitonealen Vaccineinjektion wird unter den angegebenen Bedingungen keine Immunität der Cornea erzielt. Von Interesse war die Nachimpfung des rechten Auges am 2. Okt.; trotzdem mit unverdünnter Lymphe geimpft wurde, blieb zuerst eine deutliche Reaktion, die sich erst nach einer Zweitimpfung einstellte, aus.

## IV. Intravenöse Vaccineinjektion: 3 Röhrchen frischer Lymphe auf 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt; 1 ccm injiziert.

## 1) Hasenkaninchen:

15. Aug. injiziert.

16. Aug. Hautdecke wegen des Calmette-Guérinschen Phänomens eröffnet.

17. Aug. reaktionslos; ebenso 19. Aug.

6. Sept. am Rücken nachgeimpft.

7. Sept. keine Reaktion.

8. Sept. unbedeutende, wahrscheinlich allergetische Reaktion.

13. Sept. linkes Auge nachgeimpft; 16. Sept. G. Ph. deutlich.

2. Okt. rechtes Auge „ 7. Okt. starkes G. Ph. positiv.

Das Serum des Kaninchens wurde auf seine eventuelle parasitizide Kraft am 23. Aug., 3. Sept. und 25. Sept. in der oben angegebenen Weise ohne Erfolg geprüft. Die Impfungen ergaben ein Guarnierisches Phänomen.

2) Schwarzes Kaninchen:

- 10. Okt. intravenös 1 ccm Lymphe (wie oben).
- 12. Okt. Hautdecke wegen des Calmette-Guérinschen Phänomens eröffnet.
- 13. Okt. Reaktion; 14. Okt. Beginn der Borkenbildung.
- 27. Nov. rechtes Auge nachgeimpft; 30. Nov. G. Ph. Epithelzellen zeichnen sich durch Phagocytose aus.
- 27. Jan. linkes Auge nachgeimpft; 29. Jan. keine Reaktion(!).
- 1. Febr. zweite Nachimpfung; 4. Febr. stürmische Reaktion mit zahlreichen Guarnierischen Körperchen(!).

Aus diesen Versuchen geht zunächst hervor, daß auf subkutanem, intraperitonealem und intravenösem Wege nach einmaliger Injektion eine Immunität der Hautdecke erzielt werden kann (vgl. negative Nachimpfungen der Haut), während im Serum keine Immunkörper in deutlich nachweisbarer Menge (negatives G. Ph.) festzustellen waren. Die Cornea war zunächst von dieser Immunität ausgeschlossen und konnte unter Produktion der Guarnierischen Körperchen mit Erfolg nachgeimpft werden.

Im Anschluß an diese Versuche wurden Reinfektionsversuche der einmal vaccinierten Kaninchencorneastelle, die nach der Abheilung an dem weißlichen Narbenschimmer wohl erkennbar ist, vorgenommen, und die Veränderungen an den Zellen des zweitgeimpften Corneae epithels verfolgt. Aus der Versuchsserie mögen hier nur folgende charakteristische Fälle, die nicht immer so deutlich waren, hervorgehoben werden:

1) Hasenkaninchen:

- Linkes Auge 24. Juni geimpft; 23. Sept. revacciniert.
- 24. Sept. zahlreiche Polynukleare; in der Nähe des Kernes der Epithelzellen treten oft große Vakuolen auf.
- 25. Sept. Vakuolen im Schwinden, dafür manche Zellen von kleinen Alveolen durchsetzt; Epithelzellen zeichnen sich durch stark zunehmende phagocytäre Eigenschaften aus. Kernpyknosen nicht selten.
- 2. Okt. dritte Impfung; bereits nach 3 Stunden treten wieder Vakuolen in der Nähe des Kernes auf; Phagocytosen.
- Am 4. Okt. wurde das Tier getötet; im Schnitt zerstreute Mitosen.

2) Schwarzweißes Kaninchen:

- Linkes Auge 4. Sept. geimpft; 4. Okt. revacciniert.
- Nach 6 Stunden: 1) Epithelzellen vakuolisiert; 2) an einzelnen Stellen beginnende Mitosen; 3) stellenweise Riesenzellbildung; 4) Wanderung von polynukleären Leukocyten; 5) Erhöhte phagocytäre Eigenschaft der Epithelzellen.

Die einmal geimpfte Corneastelle reagiert im allgemeinen nicht mehr auf eine Zweitimpfung durch Produktion von G. Körpern, dagegen sind die Epithelzellen oft bald nach der Revaccination in der Nähe der Kerne vakuolisiert, zeichnen sich durch eine lebhaft Phagocytose aus und neigen stellenweise zur Riesenzellbildung. Die frühzeitige Aenderung der Protoplasmastruktur sowie die Zuwanderung von Leukocyten weisen vielleicht auf allergische Erscheinungen hin. —

Gleichzeitig sind die früheren Filtrationsversuche (1908 u. ff.) durch Uhlenhuth- und Silberschmidt-Filter, kombiniert mit dem Anreicherungsverfahren auf Ultrafiltern fortgesetzt worden. Statt des Glastrichters, in den ein Platinkonus mit Agar (3 Proz.) getränkten und überzogenen Fließpapier eingespannt wurde<sup>1)</sup>, kam auf Vorschlag des

1) Memorias d. Instit. Oswaldo Cruz. T. I. 1909. Fasc. 2. p. 149 ff., sowie München. med. Wochenschr. 1908. No. 44.

Laboratoriumsgehilfen C. Ziegler ein Porzellantrichter (Fig. I u. II *e*) mit einem durchlöchernten Einsatz in Verwendung. Der Boden dieses perforierten Porzellantrichters (*e*) nach Hirsch wurde mit einem runden Fließpapierstück, das zunächst leicht mit Kollodium durchtränkt und

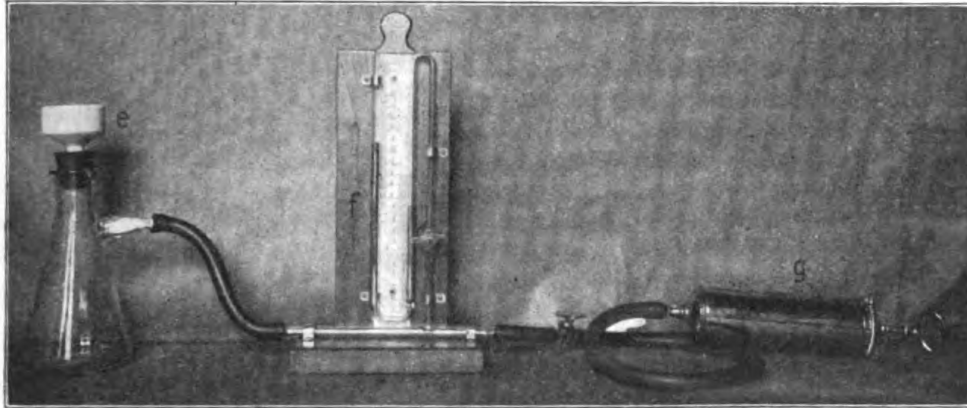


Fig. I.

dann oberflächlich begossen worden ist, bedeckt. Bevor das Kollodium noch erstarrt war, wurde dieser Ultrafilter mit einer 3-proz. Agarschicht sorgfältig überschichtet. Statt einer Wasserstrahlpumpe bedienten wir uns einer Handsaugpumpe (*g*) (Firma Lautenschläger, Berlin), wobei der

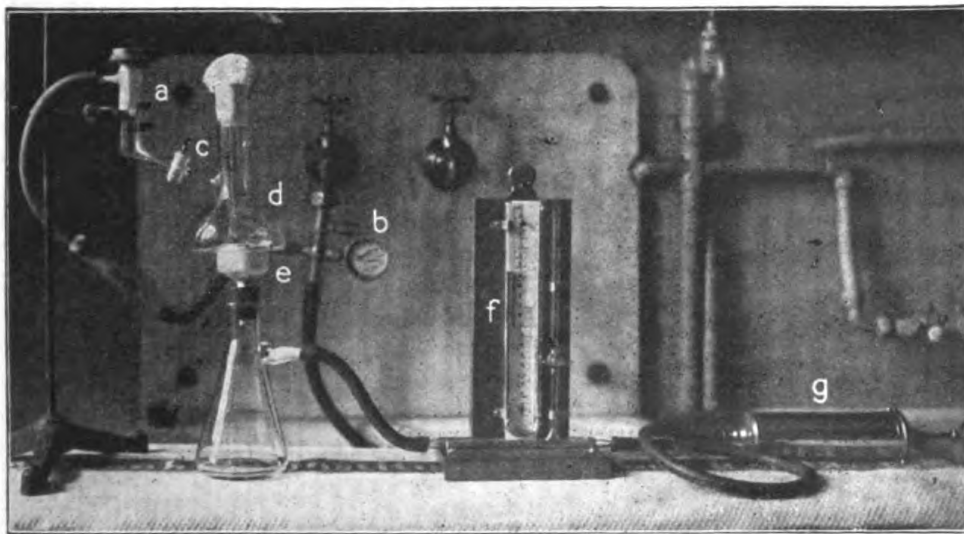


Fig. II.

mäßige Druck an einer Manometerskala (Fig. I u. II *f*) abgelesen wurde. Ein derartiges Filtersystem (Fig. I) ist besonders für die Tropen zu empfehlen, da man auf diese Weise von dem Wasserdruck unabhängig ist<sup>1)</sup>. Beim Abstellen des Druckes muß man den Gummischlauch, der

1) Die Abdichtung der Glashähne ist mit Schwierigkeiten verbunden; Herr Lautenschläger (Berlin) hat eine neue Konstruktion der Hähne in Aussicht gestellt.

die Skala mit der Handsaugpumpe verbindet, vorsichtig lüften, da sonst die eindringende Luft das Quecksilber rasch in die Höhe treibt und die Manometerröhre beschädigt; diesem Uebelstand könnte durch eine Verlängerung der Röhre, die spiralig in sich gedreht sein müßte, teilweise abgeholfen werden. Dieses System der Ultrafiltration kann gleichzeitig mit einer Filtration durch Uhlenhuth- oder Silberschmidt-Kerzen in Verbindung gebracht werden (Fig. II), indem nur die letztere Anlage (a) durch eine Wasserstrahlpumpe (b) bedient wird. Durch eine mit einem Hahn versehene Röhre (c) wird das Filtrat auf das 3-proz. Agarultrafilter geleitet (e). Um das Filtrat vor eventuellen Verunreinigungen zu schützen, ist das Verbindungsrohr (c) durch den sterilen Glassturz (d) mit dem Porzellantrichter nach Hirsch (e) vereinigt. Die fragliche Flüssigkeit wird in a von den gröberen, die Filter nicht passierenden Keimen befreit und auf e wiederum angereichert. Zu der Ultrafilteranlage gehört, wie in Fig. 1, wiederum das Manometer (f) und die Handsaugpumpe (g).

Auf diese Weise filtrierte ich 50 Portionen vorher gewässerter Glycerinlymphe, die die Silberschmidt-Kerze (Mikrofilter) langsam passierte und auf dem 3-proz. Agarultrafilter angereichert wurde (positives Guarnierisches Phänomen). Die sowohl von dem Filtrat (a) als auch von dem Ultrafiltrat (d) angelegten Agar-, Bouillon-, Pepton-, Blutagarkulturen blieben bis auf eine Blutagarkultur steril. In dem auf dem Porzellantrichter angereicherten Material sind die fraglichen Vaccinekörnchen (Elementarkörperchen des Chlamydozoon [variolo]-vaccinae)<sup>1)</sup> nachgewiesen worden. Einmal wurde statt 3-proz. Agar Kollodium allein benutzt; bemerkenswerterweise passierten die Körperchen das Kollodiumultrafilter, so daß mit dem sonst sterilen Ultrafiltrat ein Guarnierisches Phänomen erzeugt wurde und in den Ausstrichen die spärlichen Elementarkörperchen nachgewiesen worden sind. — Auf dieselbe Weise ist auch das Epithelium der Hühner einmal filtrierte und positiv angereichert worden. Kulturen auf Bouillon, Pepton, Agar und Blutagar blieben steril. Spätere Versuche mit dem Virus des Hühnerepithelioms fielen dagegen wiederum negativ aus.

Bei den angeführten Versuchen wurde auf das Vorkommen der freien Elementarkörperchen sowie auf das Auftreten der Guarnierischen Körper, die vorläufig das einzig sichere Kriterium des Vaccinationseffektes sind, geachtet. Die freien Elementarkörper wurden nach der Klatschmethode nach Loeffler gefärbt. Gegen diese letztere Färbungsart sind verschiedene Bedenken in der letzten Zeit geltend gemacht worden und es wurde unter anderem darauf hingewiesen, daß sich Lipoid- und Eiweißtröpfchen (Kavula, Niederschläge etc.) gleichfalls rot färben.

Bei einer gewissen Uebung — einer Uebung bedarf jede regressive oder auf Beizung beruhende Färbung — kann man an der Farbennüance die außerdem verschieden großen Granulationen verschiedener Art von den gleichmäßigen Elementarkörperchen, die scharf abgegrenzt und deutlich dunkelrot gefärbt sind, unterscheiden.

Die Behauptung, daß die Elementarkörperchen Organismen sind, findet ihre Stütze nicht allein in dieser oder jener Färbung, sondern

1) Paschen, Ueber den Erreger der Variolavaccine etc. (Handb. d. Techn. u. Method. d. Immunitätsforsch. 1910.) — Prowazek, Handb. d. pathog. Protozoen. Bd. 1. 1912. An beiden Stellen Literatur angegeben.



wird abgeleitet aus dem morphologischen Verhalten (gleichartige Gestalt, Art der Vermehrung, Zunahme bei dem Krankheitsprozeß), dem regelmäßigen Vorkommen, dem Verhalten bei den Immunitätsprozessen, bei dem passageweisen Tierversuch, bei der Ultrafiltration etc. — immerhin ist sie zunächst nur eine Behauptung, die noch des Schlußbeweises ermangelt.

Die Körperchen färben sich nach wiederholten Versuchen nicht mit Sudan oder Osmium, sind gramnegativ, werden durch schwache Salzsäure nicht zerstört, färben sich bei einer Alkalisierung schwach mit Brillantkresylblau und nehmen, wie die Molluscumkörperchen bei der Giemsa-Färbung eine schwache Tinktion an (Paschen); ungefärbt kann man sie am besten im trockenen Deckglasklatschpräparat beobachten, das auf einen Objektträger mit Wachsfüßchen montiert wurde, worauf das

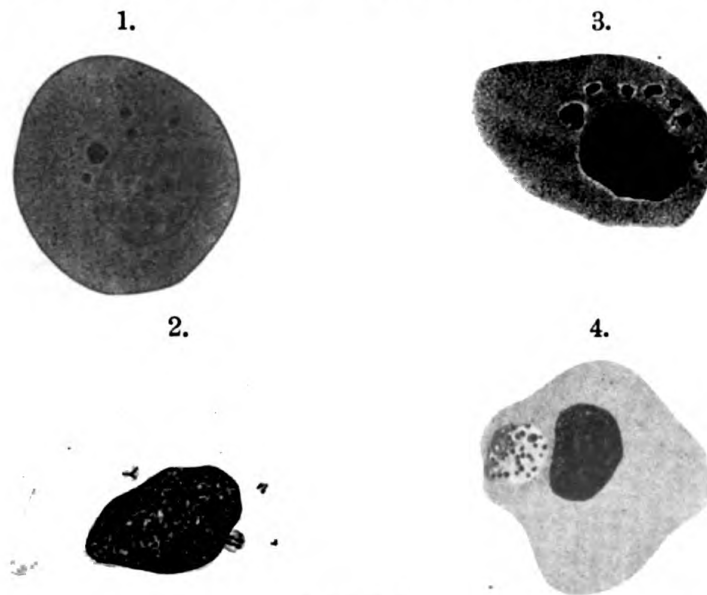


Fig. III.

1. Corneazelle mit Elementarkörpern 4. Sept. geimpft, 7. Sept. präp., 1400 vergr.
2. Junge Guarnierische Körperchen mit Innengebilden, Giemsa-Färbung, 1400 vergr.
3. Zelle mit mehreren jungen Guarnierischen Körperchen, vom 4.—6. Sept, Giemsa-Färbung, 1400 vergr.
4. Corneazelle mit phagocytierten Polynukleären, 1400 vergr., Giemsa-Färbung.

Präparat ohne Intermedium (Glyzerin oder Wasser) mit der Immersion ( $\frac{1}{12}$  Okular 6—8) auf der fraglichen Stelle durchmustert wird. — Falls es sich um bloße Eiweißniederschläge handeln würde, müßten diese Körperchen in dem eiweißreichen, frischen Pustelmateriale (Kalbspustel, Variolapustel) reichlicher vorkommen als in den Abstrichen, die von der Oberfläche der Ultrafilter hergestellt worden sind. — In den Zellen (Volpino) gelang mir einigemal neben den Initialkörpern die Darstellung der isolierten Elementarkörperchen nach der neuen Giemsa-Azetonmethode (Fig. III, 1). Wurden die Ausstriche, die in der üblichen Weise in Sublimataalkohol fixiert worden sind, stärker differenziert, so kamen in den jungen Guarnierischen Körpern, die vielfach in der Mehrzahl (Fig. III, 2 u. 3) auftraten und daher zunächst nicht von der in der Einzahl vorhandenen Archospäre abgeleitet werden können, rotgefärbte, eigenartige Innenkörper zum Vorschein (Fig. III, 2).

7\*



Bei einiger Uebung kann man nach der Azeton-Giemsa-Methode die Guarnierischen Körper von den phagozytierten Polynuklearen unterscheiden — die letzteren führen meist einen blau oder blauviolett gefärbten zentralen Kernrest, der von den rot tingierten Granulationen umgeben ist (Fig. III, 4). — Für ultramikroskopische Untersuchungen stellte mir Herr Prof. Paschen klare Kinderlymphe zur Verfügung. Im Dunkelfeld leuchten die Elementarkörperchen, wie bereits Paschen angegeben hatte, als helle, etwa  $\frac{1}{10} \mu$  große Punkte auf, die in beständigen, unregelmäßigen Bewegungen begriffen sind, die anscheinend von derselben Art waren, wie die Brownsche Molekularbewegung sicher unbelebter, lebhafter glänzender Teilchen, die der Flüssigkeit beigemischt waren. Für die Brownsche Molekularbewegung ist es eben bezeichnend, daß nicht die Masse, sondern nur das Volumen der Korpuskeln für die Bewegungsart maßgebend ist — demnach führen auch gleichgroße Metallstäubchen, Luftbläschen etc., die gleiche Bewegung aus.

Es schien von Interesse zu sein, die wirren Bahnen dieser Körperchen in einer passend gewählten Zeiteinheit zu berechnen und sie miteinander zu vergleichen, da nach Einstein und Smoluchowski in der Fassung von Einstein<sup>1)</sup> die mittlere Bahnverschiebung proportional der Quadratwurzel aus der Zeit ist. „Die Verschiebung  $\lambda_z$  in Richtung der x-Achse, welche ein Teilchen im Mittel erfährt, oder — genauer ausgedrückt — die Wurzel aus dem arithmetischen Mittel der Quadrate der Verrückungen in Richtung der x-Achse ist:  $\lambda_x = \sqrt{\overline{x^2}} = \sqrt{2D(\text{Konstante})t}$ . — Die mittlere Verschiebung ist also proportional der Quadratwurzel aus der Zeit. Man kann leicht zeigen, daß die Wurzel aus dem Mittelwert der Quadrate der Gesamtverschiebungen der Teilchen den Wert  $\lambda_x \sqrt{3}$  besitzt.“

„Solange wir die Zeitintervalle nicht zu klein wählen“, sind die Bewegungen ein und desselben Teilchens in verschiedenen Zeitintervallen bezüglich Richtung und Größe voneinander unabhängige Vorgänge, die mit dem Charakter des „Ungeordnetseins“ (Perrin) behaftet sind.

Die Bewegungen der Körperchen wurden im Dunkelfeldmikroskop (Nernst-Lampe) bei entsprechender Abblendung der Umgebung mit dem neuen Zeiss-Zeichenapparat bei eingeschobenem Tubus mit Komp.-Okular 12 auf in der Tischebene gespanntes Millimeterpapier bei 8 und 16 Sekunden gezeichnet. Die Temperatur wurde mittels eines Thermometers in der Tiefe des Mikroskoptubus gemessen und betrug bei den Messungen für 8" etwas über 21° C, bei 16" 22,5° C.

Für die Wegmessungen wurde die Methode von Perrin<sup>2)</sup> benutzt: „Wenn man auf quadrilliertem Papier arbeitet, so bekommt man die Projektionen der verschiedenen so erhaltenen Segmente auf zwei rechtwinkelige Achsen direkt, doch ist es überflüssig sie zu messen, da die Summe der Quadrate dieser Projektionen gleich ist der Summe der Quadrate der Segmente, so daß man, um das mittlere Quadrat der Projektion auf eine Achse zu bekommen, nur die einzelnen dieser Segmente

1) Einstein, A., Ueber die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderten Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. (Ann. d. Physik. Bd. 17, 1905, p. 549 ff.)

2) Perrin, J., Die Brownsche Bewegung und die wahre Existenz der Moleküle. (Kolloidchem. Beihefte, Bd. 1, Dresden 1910.)

zu messen, ihre Quadrate zu berechnen und die Hälfte des Mittels dieser Quadrate zu nehmen braucht.“

Demnach wurde die Anfangs- und Endposition auf der Horizontalachse  $x$  abgelesen, die erhaltenen Werte wurden quadriert, sodann addiert (für  $8'' = 8631$ ; für  $16'' = 39037,25$ ) und durch die Zahl der Beobachtungen (für  $8'' = 53$ ; für  $16'' = 100$ ) dividiert. Das Verschiebungsquadrat  $\bar{\lambda}_s^2$  für  $8'' = 162,85$ ;  $\bar{\lambda}_{16}^2 = 390,37$ ; in ähnlicher Weise läßt sich  $\bar{\lambda}_s^2$ , etc. für die Zeit von  $32''$  etc. berechnen. Die Verschiebungsquadrate müssen sich wie  $1:2:4$  etc. verhalten. Es soll sich verhalten  $162,85:390,37 = 8:16$ ;  $390,37:162,85 = 2,3$ . Der Quotient ist annähernd 2 gleich. Korrekterweise hätte man für jedes einzelne Körnchen alle Verschiebungsdistanzen bestimmen müssen, ein Unternehmen, das technisch nicht ganz durchführbar war, andererseits müßte die Zahl der Beobachtungen auch noch erhöht werden. Immerhin geht bereits aus dieser Betrachtung hervor, daß die Bewegung der Körnchen wahrscheinlich von der Art der Brownschen Molekularbewegung ist. Wir können nur von einer Wahrscheinlichkeit reden, da K. Przibram<sup>1)</sup> für *Paramaecium*, *Colpidium* und *Trachelomonas* im Gesamtmittel auch die Zahl 2, 11 errechnet hatte; den erwähnten Organismen kommt jedoch eine Eigenbewegung zu. *Paramaecium* und *Colpidium* sind als sogenannte Schlingerinfusorien auf eine beständige bakterielle Nahrungsaufnahme angewiesen und sind so ständig räumlich und zeitlich den verschiedensten Reizen ausgesetzt, die eine gerichtete Bewegung sofort in eine ungeordnete verwandeln.

Ähnlich dürften sich die Verhältnisse bei dem im Lichte assimilierenden *Trachelomonas*, das vielleicht noch eine mixtotrophe Lebensweise führt, gestalten (vgl. *Euglena*)<sup>2)</sup>.

Bei diesen niederen Organismen löst demnach die ungeheuere Mannigfaltigkeit der Reizwelt gleichsam aus dem Inneren der aktiv beweglichen Zellen ungeordnete Bewegungen aus, die denen ähnlich sind, die als Brownsche Molekularbewegung bezeichnet werden und die auf die Moleküle passiv übertragen werden. Wie Przibram weiter zeigen konnte, kann man die Analogie zwischen der Eigenbewegung der Infusorien und der Molekularbewegung jedoch nicht mehr weiter durchführen, da die Infusorien einer ganz anderen Größenordnung angehören und so aus dem weiteren Wirkungsbereich der Einsteinschen Formeln hinaustreten. Ferner ist die wahre Brownsche Bewegung der absoluten Temperatur proportional, während die Bewegung der Infusorien der van't Hoff'schen Regel folgt und bei einer Zunahme von  $10^\circ$  annähernd um das Doppelte zunimmt<sup>3)</sup>.

Immerhin ist es bemerkenswert, daß niedere Organismen (Elementarorganismen) dieselben ungeordneten Bewegungen ausführen wie die kleinsten Körper anorganischer Natur, „deren Bewegungen bereits molekulare Bewegungen so wie ultrarote Strahlen schon Licht sind“ (Perrin). Bei den höheren Ciliaten rufen die mannigfachen Reize die unge-

1) Przibram, K., Ueber die ungeordnete Bewegung niederer Tiere. (Pflügers Arch. f. d. g. Physiol. Bd. 153. 1913. H. 8.)

2) Zumstein, Zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis*. (Klebs Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 34. 1900.)

3) Vgl. Przibram, K., Siehe oben Pflügers Arch. Bd. 153. H. 8. p. 405; sowie Prowazek, Einführung in die Physiologie der Einzelligen. Leipzig u. Berlin (Teubner) 1910.

ordnete Bewegung dieser großen Zellen hervor, während die Elementarkörper und Strongyloplasmen ebenso wie die Moleküle nach der kinetischen Theorie bereits den Brownschen „Schwarmtanz“ ausführen. Mit der Differenzierung der Zellen wird das Reizchaos nicht mehr durch ungeordnete Bewegungen der Organismen beantwortet, sondern die Organismen bewegen sich nach den Richtungen, die den Resultierenden aus zwei oder mehreren Reizkomponenten entsprechen.

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Frage über das Wesen der Syphilisreaktion.

[Aus der Chemisch-Bakteriologischen Abteilung des Gouvernements-Semstwo-Krankenhauses in Charkow.]

Von Dr. **Marcus Rabinowitsch**, Leiter der Abteilung.

Im Laufe der 7 Jahre, die seit der Entdeckung der Syphilisreaktion verflossen sind, wurden Tausende von Untersuchungen, die sich auf diese Reaktion beziehen, mitgeteilt.

Ein Teil der Forscher hat gesucht, den praktischen Wert der Reaktion festzustellen, der andere, das Wesen derselben zu ermitteln.

Wenn es den ersten Forschern sehr bald gelungen ist, den praktischen Wert der Reaktion nachzuweisen, so verbleiben die anderen trotz eingehenden Forschens nach wie vor im unklaren über das Wesen der Reaktion.

Bei den erwähnten Untersuchungen sind allerdings verschiedene Beobachtungen über die Eigenschaften der einzelnen, bei der Reaktion benutzbaren Komponenten und deren Wechselwirkung gesammelt worden, und es sind zahlreiche, zum Teil geistreiche Hypothesen aufgestellt worden.

Nach Wassermanns, auf Grund der neuen Tatsachen veränderten Theorie soll bei der Reaktion der spezifische Antikörper des luetischen Serums mit den spezifischen Eiweißlipoidverbindungen der Organextrakte in Wechselwirkung treten.

Dieselbe, aber etwas modifizierte Theorie vertreten auch Wassermanns Mitarbeiter und Schüler.

Bruck meint, daß die Reaktion durch eine unspezifische (Eiweißlipoidverbindung) und eine spezifische (Ambozeptor gegen unbekannten Syphilisstoff) Komponente hervorgerufen wird.

Citron modifiziert die Wassermannsche Theorie in dem Sinne, daß die Reaktion durch das Zusammenwirken von spezifischem Toxolipoid und Toxolipoidantikörper bedingt werden soll.

Die Theorie von Weil und Braun sieht in den Autoantikörpern die durch das Eiweiß der zerfallenen Körperzellen gebildet werden, den wichtigsten Faktor der Reaktion.

Dagegen betrachten Porges und seine Mitarbeiter die Syphilisreaktion als eine Fällungsreaktion zwischen gewissen Kolloiden des Organextraktes einerseits und der Eiweißkörper andererseits, die den Globulinen zuzurechnen sind und im Luesserum infolge geringerer Stabilität eine größere Fällungszone verursachen.

Endlich sind noch die Fermenttheorien von Manwaring und Kiss zu erwähnen.

Manwaring ist der Ansicht, daß bei der Syphilisreaktion das Komplement durch das proteolytische Ferment des Meerschweinchenserums, unter Mitwirkung der Säuren, Kofermente und Fermentstimulatoren des Serums und der Organextrakte, vernichtet wird.

Nach Kiss wird dagegen das Komplement bei der Reaktion durch ein im Organextrakte vorhandenes Komplementgift, dessen Wirkung durch das Serum verstärkt wird, vergiftet.

Betrachten wir diese wichtigsten Theorieen über das Wesen der Syphilisreaktion, von denen es zahlreiche und verschiedenartige Variationen gibt, so sehen wir, daß wenn auch die einzelnen Theorien einander widersprechen, sie doch sämtlich etwas Gemeinsames haben, und das ist die Annahme, daß bei der Syphilisreaktion den im Luesserum erscheinenden Körpern eine wichtige Rolle zukommt.

Wenn aber, wie angenommen wird, im Serum der Syphiliskranken irgendein Körper erscheint, der mit dem Krankheitsprozeß in einem engen Zusammenhang steht, so ist es selbstverständlich, daß dieser Körper nie und unter keinen Bedingungen im Normalserum und im Serum von anderen Kranken zum Vorschein kommen kann.

In der Tat wissen wir aber, daß es einige Krankheiten außer der Syphilis gibt, wie Lepra, Recurrens, Scharlach, Malaria u. a., bei denen die Syphilisreaktion ein positives Resultat liefert, d. h. bei denen der hypothetische Serulkörper, an den die Reaktion gebunden sein sollte, zum Vorschein kommen muß.

Auch bei gesunden Menschen wurde von einigen Autoren während der Narkose, wie auch nach eklamptischen Anfällen vorübergehend eine positive Syphilisreaktion beobachtet.

Diese merkwürdigen Tatsachen konnten bis jetzt durch keine der bekannten Theorien einwandfrei erklärt werden, und aus diesem Grunde ist auch keine allgemein anerkannt worden.

Es werden aber, wie mir scheint und wie es die folgenden Versuche bestätigen, die erwähnten merkwürdigen Tatsachen sich leicht erklären lassen, wenn man in der Syphilisreaktion einen Prozeß sieht, der demjenigen bei der antitryptischen Reaktion ähnlich ist.

Wie bekannt, beruht die antitryptische Reaktion darauf, daß bei einigen Krankheitsprozessen aus dem Blutserum das antitryptische Ferment, welches in jedem Normalserum vorhanden ist, teilweise oder ganz verschwindet.

In ähnlicher Weise kann auch die Syphilisreaktion darauf beruhen, daß irgendein Bestandteil des Serums, der in jedem Normalserum vorhanden ist und die Komplementbindung (oder Komplementvernichtung) verhindert, aus dem Serum der Syphiliskranken teilweise oder vollständig verschwindet.

Wie das Verschwinden des antitryptischen Fermentes aus dem Blutserum und das Zustandekommen der Reaktion bei verschiedenen Krankheitsprozessen und post mortem beobachtet wird, so sind auch bei der Syphilisreaktion ganz ähnliche Verhältnisse konstatiert worden.

Ein weiterer Parallelismus zwischen der antitryptischen und der Syphilisreaktion besteht, wie ich feststellen konnte, darin, daß bei Normalseris, die längere Zeit im Eisschrank aufbewahrt werden, beide Reaktionen positiv ausfallen.

Solche im Eisschrank aufbewahrten Sera, die vorher eine negative Reaktion gegeben haben, fangen ganz allmählich an, das Komplement zu binden, und nach einer bestimmten Zeit geben sie eine komplette Komplementbindung.

Im Laufe der Zeit sind in dieser Richtung von mir ca. 3000 Sera mit gleichem Resultat untersucht worden. Unter diesen Seris befanden sich solche, die bei der ersten Untersuchung eine negative Reaktion ergeben haben, wie auch solche, die teilweise, stark oder komplett, das Komplement gebunden haben.

Diese sämtlichen im Eisschrank aufbewahrten Sera sind nach 2 Wochen bis mehreren Monaten zum zweitenmal, einige auch zum drittenmal, untersucht worden.

Die Untersuchungen sind immer mit 5 Antigenen ausgeführt worden. Jedesmal ist vor dem Versuche das Komplement per se mit jedem der benutzten Antigene, wie auch mit den Antigenen und dem Normalserum austitriert worden.

Als Antigene wurden alkoholische Extrakte aus getrockneten, fötalen syphilitischen Lebern, wie auch solche aus Meerschweinchen- und Menschenherzen gebraucht.

Vom Ambozeptor wurde der dreifache Titer zum Versuche benutzt. Bei der Herstellung des Ambozeptors sind die Kaninchen mit den Blutkörperchen sämtlicher Hammel, von denen nachträglich die Blutkörperchen zu den Versuchen entnommen wurden, geimpft worden.

Diese Versuche haben ergeben, daß sämtliche negativ und schwach positiv<sup>1)</sup> reagierenden Sera nach einer gewissen Zwischenzeit, die je nach dem Serum und je nach dem Antigen verschieden sein kann, komplett das Komplement zu binden anfangen. Dabei kommt in den „aktiven“ Seris diese Erscheinung in bedeutend kürzerer Frist als in den inaktivierten zum Vorschein (Tabelle 1).

Ähnliche Beobachtungen sind schon längst von verschiedenen Autoren kurz mitgeteilt worden.

So haben schon die Begründer der Syphilisreaktion gefordert, daß die Blutsera möglichst rasch nach dem Gewinnen inaktiviert werden, da die aktiven Sera leicht eigenhemmende Eigenschaften bekommen.

Später wurde auch bei inaktivierten Seris diese Eigenschaft beobachtet, und deshalb halten es Sachs und Altmann für zweckmäßig, daß die Sera möglichst bald nach der Inaktivierung zur Untersuchung gelangen.

Einige Autoren konnten nur eine Verminderung der Reaktionsfähigkeit bei den aufbewahrten Seris konstatieren, die anderen aber auch eine Verstärkung derselben.

Bei meinen Untersuchungen konnte ich dagegen die Beobachtung machen, daß diejenigen Sera, die bei der ersten Untersuchung das Komplement vollständig gebunden haben, es auch nach Ablauf von mehreren Monaten bis zu einem Jahre taten, d. h. sie haben ihre Reaktionsfähigkeit nicht verändert (Tabelle 1).

Eine Ausnahme davon machten nur einige Sera, die von Schimmelpilzen durchwachsen waren. Diese Sera haben sämtlich bei der zweiten Untersuchung negativ reagiert, ganz unabhängig vom Ergebnis der ersten Untersuchung (Tabelle 3).

1) Als schwach positiv bezeichne ich Reaktionen, bei deren eine partielle Komplementbindung konstatiert wird.

Tabelle 1<sup>1)</sup>.

Ergebnisse der ersten Untersuchungen					Ergebnisse der zweiten Untersuchungen					Zwischen- zeit
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16
—	—	—	—	—	Sp	—	—	Sp	—	28
—	—	—	—	—	+	Sp	kl	Sp	kl	57
—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	74
—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	79
—	—	—	—	—	+	kl	kl	kl	k	82
—	—	—	—	—	+	SH	SH	SH	SH	94
—	—	—	—	—	+	k	k	k	SH	99
—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	108
—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	121
—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	135
—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	146
—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	160
—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	211
Sp	kl	—	kl	—	+	kl	Sp	+	+	12
Sp	Sp	kl	—	kl	+	+	+	+	+	12
+	Sp	kl	Sp	k	+	kl	kl	kl	+	31
+	kl	k	k	+	+	+	+	+	+	37
kl	Sp	Sp	—	k	+	Sp	kl	k	+	53
Sp	k	kl	k	Sp	+	+	+	+	+	60
k	k	kl	Sp	k	+	+	+	+	+	111
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	21
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	37
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	50
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	88
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	116
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	162
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	359

Zeichenerklärung: Sp = Spur Niederschlag. kl = kleine Kuppe. k = Kuppe. SH = Spur Hämolyse. — = komplette Hämolyse. + = komplette Bindung.

Nach dieser Beobachtung müßte sich der Gedanke aufdrängen, ob nicht auch die Veränderungen der Reaktion der übrigen gelagerten Sera auf eine bakterielle Verunreinigung zurückzuführen sind.

Es wurde deshalb eine Reihe von Seris auf verschiedene Nährböden geimpft, und es konnten in einem großen Teil der älteren Sera (in ca. 28 Proz.) verschiedene Bakterien nachgewiesen werden; sie blieben aber für das Ergebnis der Reaktion ohne Belang, da kein Unterschied konstatiert werden konnte zwischen den keimfreien und verunreinigten Seris<sup>2)</sup> (Tabelle 2).

Diese merkwürdige, regelmäßig zum Vorschein kommende Erscheinung bei den gelagerten normalen Seris kann meiner Ansicht nach nur in der Art erklärt werden, daß beim längeren Aufbewahren aus diesen Seris in ähnlicher Weise, wie das antitryptische Ferment oder wie das Komplement aus den gelagerten Meerschweinchen-seris, irgendein fermentativer Bestandteil, der die Fähigkeit hat, die Komplementbindung zu verhindern, inaktiv wird.

1) In dieser Tabelle, wie auch in der Tabelle 2 sind nur einige ausgewählte typische Versuchsergebnisse zusammengestellt worden.

2) Es ist selbstverständlich, daß sämtliche bei der Ausführung der Syphilisreaktion nötigen Gegenstände und Komponenten stets steril benutzt wurden.

Tabelle 2.

Ergebnisse der ersten Untersuchungen	Ergebnisse der zweiten Untersuchungen	Zwischenzeit	Ergebnisse der Aussaaten
— — — — —	+ + + + +	80	Staphylococcus albus
— — — — —	+ + + + +	85	steril
— — — — —	+ + + + +	93	Staphylococcus aureus
— — — — —	+ + + + +	128	steril
— — — — —	+ + + + +	132	Staphylococcus albus und gramfeste Stäbchen
— — — — —	+ + + + +	149	steril
— — — — —	+ + + + +	174	Diplococcus, Staphylococcus aureus und Stäbchen
k Sp Sp kl Sp	+ + + + +	39	steril
Sp Sp kl kl k	+ + + + +	65	Staphylococcus flavus und Micrococcus catarrh.
k k k Sp —	+ + + + +	94	Sarcinen
— k Sp kl Sp	+ + + + +	127	steril
Sp Sp kl kl +	+ + + + +	163	Staphylococcus albus
kl k k k +	+ + + + +	259	Staphylococcus citreus, Diplococcus und gramfeste Stäbchen
+ + + + +	+ + + + +	78	steril
+ + + + +	+ + + + +	89	Staphylococcus albus et aureus
+ + + + +	+ + + + +	117	Micrococcus tetragenus und gramfeste Stäbchen
+ + + + +	+ + + + +	123	steril
+ + + + +	+ + + + +	142	steril
+ + + + +	+ + + + +	187	Staphylococcus aureus und Diplococcus

Tabelle 3.

Ergebnisse der ersten Untersuchungen	Ergebnisse der wiederholten Untersuchungen	Zwischenzeit	Verunreinigung des Serums
— — — — —	— — — — —	62	Schimmelpilze
— — — — —	— — — — —	87	"
— — — — —	— — — — —	91	"
— — — — —	— — — — —	119	"
— — — — —	— — — Sp —	286	"
Sp kl k kl +	— — — — —	71	"
k k — k kl	— — — — —	118	"
kl kl Sp k k	— — — — —	207	"
Sp — kl Sp kl	Sp — — — —	252	"
k Sp k kl k	— — — — —	41	"
+ + + + +	— — — — —	43	"
+ + + + +	— — — — Sp	92	"
+ + + + +	— — — — —	152	"
+ + + + +	kl — — — Sp	221	"

Bei dieser Voraussetzung können die verschiedenen, scheinbar einander widersprechenden, mit der Syphilisreaktion im Zusammenhang stehenden Beobachtungen leicht erklärt werden.

Wenn wir nämlich annehmen, daß die Syphilisreaktion dadurch zustande kommt, daß in den Seris der Syphiliskranken dieser konstante Bestandteil der Normalsera inaktiv wird, so ist es klar, daß diese Inaktivierung, wie auch die Reaktionsergebnisse, je nach der Intensität des Krankheitsprozesses und je nach den individuellen Besonderheiten des Organismus, verschieden sein müssen.

Daraus folgt wiederum, daß dieselben Bedingungen, unter denen die erwähnten Serumbestandteile inaktiv werden, auch bei einigen anderen Krankheiten geschaffen werden können, und die Syphilisreaktion zustande kommen muß.

Bei der Syphilis werden, wie die Erfahrung lehrt, diese Bedingungen größtenteils bei einigen anderen Krankheiten nur selten geschaffen, und deshalb kann die Syphilisreaktion trotzdem ihren mit Recht allgemein anerkannten praktischen Wert behaupten. Es müssen allerdings diejenigen Krankheiten, die die Reaktion geben, jedesmal ausgeschlossen werden.

#### Zusammenfassung.

1) Die Wassermannsche Syphilisreaktion ist eine fermentative Reaktion, die dadurch bedingt wird, daß im Luesserum ein dem anti-tryptischen ähnlicher, fermentativer Bestandteil, der in jedem Normalserum vorhanden ist und die Komplementbindung oder -vernichtung verhindert, inaktiv wird.

2) Diese Inaktivierung des Antifermentes ermöglicht die fermentative Wechselwirkung zwischen dem Komplement, dem Organextrakte und dem inaktiv gewordenen Serum, durch die das Komplement gebunden oder vernichtet wird.

3) Derselbe Prozeß kann auch bei einigen anderen Erkrankungen, während der Narkose, in den Leichenseris, wie auch in den Normalseris, die längere Zeit aufbewahrt werden, Platz haben, und deshalb müssen diese sämtlichen Umstände bei der Syphilisreaktion, die keine spezifische Immunitätsreaktion ist, berücksichtigt werden.

4) Da aber die bekannten anderweitigen Fälle, bei denen die Syphilisreaktion zustande kommt, nur sehr spärlich sind und bei der Syphilis sie meistens zum Vorschein kommt, so hat sie trotzdem einen großen, mit Recht allgemein anerkannten, praktischen Wert.

---

*Nachdruck verboten.*

## A contribution to our knowledge of the cultivation of *Spirochaeta recurrens*<sup>1)</sup>.

By Prof. Dr. S. Hata, Institute for study of infectious diseases, Tokyo.

With 1 Figure in the text.

Numerous attempts had been made by many investigators to cultivate *Spirochaete recurrens*, but without result, until at last Noguchi, to whom we owe our knowledge of the cultivation of various *Spirochaetes*, succeeded in obtaining the unquestionable multiplication of the organism *in vitro*. The culture medium employed by Noguchi consists of fresh ascites in which a small piece of the kidney of a rabbit

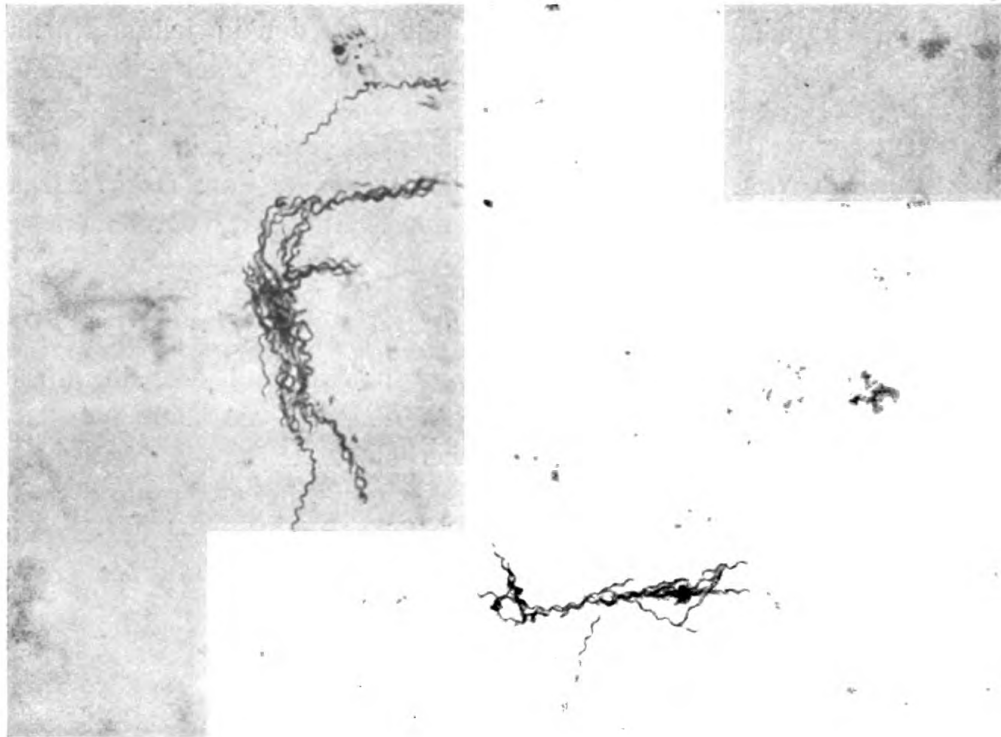
---

1) The paper read before the sect. of trop. med. of the XVII intern. med. Congr. in London.



is immersed. This is inoculated with a small quantity of blood containing *S. recurrens*, and the multiplication of the germ occurs when incubated at 37° C for 2—3 days. The maximum growth is reached on the 7th to 8th day. The Spirochaetes thus cultivated, however, show a tendency to rapid degeneration, so that in three days more none of them is found to move. One of the difficulties often met with in following this method is that ascites from various sources does not always serve our purpose, and the fluid must also be examined for contamination, bile, etc. before it can be used as a basis for the culture medium.

As soon as Noguchi published his work in 1912, I set about to examine his results and to repeat his experiments, and these I have been able completely to confirm. The only difference between us is



that I carried out my cultural experiments with mouse-to-mouse preserved Spirochaetes of African relapsing fever. My experiments also show that the covering of the ascites with paraffin oil is quite unnecessary.

The difficulty of periodically collecting in our Institute ascites from various sources, and the inadequacy which, as Noguchi points out, is often met with, have given rise to the urgent need of finding a substitute which can be obtained at any time. With this in view I have carried out comparative inoculation tests with normal horse serum in its fresh state or at various stages of auto-lysis. The serum was diluted in various proportions with physiological saline solution with which a certain quantity of agar-agar had been mixed, or which had been semi-coagulated by heating at different temperatures before they were used. In the present report I shall give only that method which produced the best result.

Blood is drawn from the vein of a normal horse into a tall glass cylinder and set aside until separation of the serum is complete. 4 c. c. of the serum is put into each of a number of test tubes having 1.5—1.7 cm. diameter, with a sterile pipette, and 8 c. c. of physiological saline solution added and the whole evenly mixed, the total contents of the tubes being as high as 6.5—7.0 cm. The tubes are then placed in a water-bath at 58° C, the temperature being very gradually raised until it reaches 70° or 71° in three hours. The tubes are then heated at 71° for 30 minutes, when the whole contents will present a translucent milky appearance with a semi-solid surface. They are then removed from the bath and set aside until they cool of themselves, when the contents will consist of an opaque semi-coagulated mass. This semi-coagulated serum and saline solution mixture can be substituted for Noguchi's ascites with satisfactory results.

One or two small pieces of rabbit's kidney is immersed in this mass. If the kidney does not submerge of itself, it must be pushed down with a sterile glass rod so as to make it rest at the bottom of the tubes.

A small quantity of the blood of an animal with relapsing fever is inoculated deeply into the culture medium containing a piece of kidney, by means of a sterile capillary glass tube, and the test tube is then placed in an incubator at 37° C. The multiplication of the *Spirochaetes* will be readily observed on the following day, while in two day its will be still more evident, the maximum growth being reached on the fourth day. At this stage some organisms will grow to a considerable length, just enough to wind about along the whole microscopical field, or innumerable germs will agglomerate into a tangled mass presenting a fine net-work under the microscope. When seen with the aid of the dark ground illumination, these grown germs move less actively than the 2—4 days old short ones, this being especially the case with very much elongated individuals. In 5—7 days old cultures, moving individuals are rarely observed. The virulence of the cultivated *Spirochaetes* is relatively weak, for a small dose, e. g. 0.2 c. c., of the 2—4 days old cultures will cause only a weak infection when it is injected intraperitoneally or under the skin. Only a few *Spirochaetes* make their appearance in the blood of the mouse in some five days or so after inoculation. As a rule 5—7 days old cultures will not cause infection.

Noguchi's method is subject to various inconveniences, for although the germs grow rapidly in his medium, they live only for a short space of time, and their virulence rapidly decreases, whilst there is also the killing of a rabbit for its kidney. These led me to try to find a substitute for the kidney, and at length I was successful.

The blood of a normal horse, in a tall cylinder, separates into the serum and the clot, and the clot consists of two layers, i. e. the cruor consisting of the red corpuscles, and a buff coagulum known as "speck" in Germany, and "buffy coat" in England, composed, of the white corpuscles and blood platelets. I cut this buff coagulum into pieces each having 1 c. c. dimension, and use 2 or 3 of such pieces in place of the kidney. They are so light that they will not sink to the bottom of the semi-coagulated serum and saline mixture, and they must be pushed down with a sterile glass rod.

I inoculate the culture medium containing this buff coagulum with a small quantity of the blood containing *S. recurrens* and the growth

Table I.

Results of the experiments as to the

Number of passages	I								
Number of days cultivated, 37° C	4	12	15	20	21	21	23	25	30
Results of inoculation.									
After 1 day	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2 days	+	+	—	—	—	—	—	—	—
" 3 "	+	+	—	—	—	—	—	—	—
" 4 "	+	+	—	—	—	—	—	—	—
" 5 "	+	++	—	—	—	—	—	—	—
" 6 "	++		+	+	—	+	—	—	—
" 7 "			+	+	+	+	—	—	—
" 8 "			++	+	+	++	—	—	—
" 9 "			++	++	++		—	—	—
" 10 "							—	—	—
" 11 "							—	—	—
" 12 "							—	—	—

of the Spirochaetes is observed on the second day, reaching the maximum in 5—7 days. The number of Spirochaetes in this medium appears to be a little less than in the one containing the kidney. Those exceedingly elongated forms which are met with in the kidney culture are never seen. They lie mostly in regular order parallel to each other, and remain actively motile even up to the 10th—14th day at 37° C. In a 10 days old culture they become gradually inactive, and over 14 days they generally cease to move. The virulence of the Spirochaetes that have been cultivated in this medium is stronger than those obtained in the kidney culture, for in the blood of a mouse inoculated with a 7 days old culture the Spirochaetes are discovered on the 2nd day. Though a culture more than 10 days old will become less virulent, all the mice that had been inoculated with a 21 days old culture took infection, but inoculation with a 25 and 30 days old culture respectively showed negative results.

It follows, therefore, that sub-cultivation in a fresh medium, into which about 0.5 c.c. of a 5—7 days old culture is inoculated, will enable us to get long continued cultivation of the Spirochaetes. The work much be carried out under most strictly aseptic conditions, for bacterial infection will, as Noguchi says, soon destroy all the Spirochaetes. I have at present a most vigorous culture which has gone through 27 passages in 150 days, during which time they have never passed an animal body.

These cultivated Spirochaetes will live for 3 weeks at 37° C, but at room temperature those that have been cultivated at 37° C for 4—5 days will live vigorously even for 60 days. How much longer they will live is not yet determined.

A 2 weeks old culture medium containing some pieces of buff coagulum can be used in practice if it has been most carefully kept in a refrigerator.

Relapsing fever prevailed in Tokyo at the beginning of this summer. Its germ is apparently distinct from the African species, though not yet identified. The blood of the patient was inoculated

Table I.  
virulence of the cultivated *Spirochaetes*.

II	IV	VI	VIII	XI	XV	XX	XXVI
4	4	5	4	14	2	5	7
— + ++ ++	+ + ++ ++	+ + + ++	+ + ++ ++	— + +	+ + +	+ + ++ ++ +	— + + ++

directly into my culture medium, and the growth of the *Spirochaetes* was thus observed.

Table II.  
Results of experiments as to the virulence of the cultivated *Spirochaetes* kept at room temperature.

Number of passages	XXIV	XXIV	XXV	XXV	I	I
Number of days cultivated, 37° C	8	8	7	7	4	4
Number of days kept at room temperature	14	22	16	30	50	61
Results of inoculation.						
After 1 day	—	—	—	—	—	—
" 2 days	+	—	—	—	—	—
" 3 "	+	+	+	+	—	+
" 4 "	++	+	+	+	+	+
" 5 "	+	+	+	+	+	++
" 6 "		+	++	+	+	+
" 7 "			++		+	
" 8 "					+	
" 9 "						

### Resumé.

1) The semi-coagulated mass of normal horse serum to which twice its volume of physiological saline solution has been added, can be used as the culture fluid of the *S. recurrens* in place of Noguchi's ascites.

2) The buff coagulum, which is produced in preparing such normal horse serum, can be substituted for the kidney of Noguchi's medium. Though the growth of the *Spirochaetes* usually seems to take place a

little more slowly in my medium than in the one containing the kidney, they will assume their regular forms and live for a longer period of time. Moreover, they will retain their virulence for at least two months at room temperature.

3) My culture medium, which consists of normal horse serum and buff coagulum, can be easily prepared in a laboratory where normal horse blood can be obtained. It will always produce uniform results, and can be kept for two weeks in a refrigerator without loss of efficacy.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---



---

**Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.**

---

### Inhalt.

- |  |  |
|--|--|
| <p><b>Brandt, Rudolf</b>, Beitrag zur Kenntnis der Morphologie oxydierender Bakterienfermente, p. 1.</p> <p><b>Cavara, V.</b>, Eine neue Form von Keratomykosis (Keratomykosis mucorina), p. 23.</p> <p><b>Eckard, B.</b>, Uebertragung des Trypanosoma rhodesiense durch die Glossina palpalis, p. 73.</p> <p><b>Hata, S.</b>, A contribution to our knowledge of the cultivation of Spirochaeta recurrentis, p. 107.</p> <p><b>van Heelsbergen, T.</b>, Abortus bei Stuten durch einen Paratyphus-B-Bacillus, p. 38.</p> | <p><b>Kritschewsky, J. L.</b>, Ein Versuch der Anwendung der Immunitätsreaktionen für das Studium des biogenetischen Grundgesetzes, p. 81.</p> <p><b>v. Prowazek, S.</b>, Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus, p. 94.</p> <p><b>Rabinowitsch, Marcus</b>, Beitrag zur Frage über das Wesen der Syphilisreaktion, p. 102.</p> <p><b>Sangiorgi, Giuseppe</b>, Versuche mit dem filtrierbaren Virus der „Meerschweinchenpest“, p. 70.</p> <p><b>Toyoda, Hideto</b>, Züchtungsversuche mit Babesia canis nach der Bassschen Methode, p. 76.</p> |
|--|--|

*Nachdruck verboten.*

Die Grösse der Typhusbacillen, unter Anwendung der  
Kollektivmasslehre bestimmt.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Königsberg  
(Direktor: Prof. Dr. Kisskalt).]

Von **Illa Trotzky.**

Mit 1 Textfigur.

Ueber die Grösse der Typhusbacillen finden sich in der Literatur folgende Angaben: Gaffky spricht in seiner ersten Publikation nur davon, daß die Bacillen der Gelatinekultur in der Länge nicht unbedeutende Verschiedenheiten hatten; während die meisten etwa 3—4mal länger als breit waren, hatten sich in geringerer Zahl längere Scheinfäden gefunden. Neufeld gibt im Handbuch von Kolle-Wassermann an, daß die Länge 1—3  $\mu$  beträgt. In dem Lehrbuch von Kolle-Hetsch finden wir die Grösse von 1—2  $\mu$ .

Solche Angaben können aus mehreren Gründen nicht als völlig exakt gelten: Erstens ist die Länge der Typhusbacillen von dem Nährboden abhängig: Auf Agar ist sie geringer als auf Gelatine (vgl. die Photographien in Kisskalts Praktikum der Bakteriologie). Außerdem genügt es heutzutage nicht mehr, so kurze Angaben zu machen: durch die mathematische Auffassung der Grösse von Kollektivgegenständen sind wir gezwungen, in dieser Beziehung exakter vorzugehen.

Solche Messungen und Berechnungen sind allerdings in der Bakteriologie bisher noch nicht vorgenommen worden; häufiger in anderen Wissenschaften. Quételet hat die Kollektivmaßelehre in die Biometrie eingeführt. Er fand, daß die Verteilung der Körpergrößen des Menschen sich nach dem Binominalgesetz regeln. Das bedeutet, daß die mittleren Größen sehr zahlreich sind, daß die Abweichungen vom Mittel um so seltener, je bedeutender sie sind. Es gibt sehr zahlreiche mittelgroße Menschen, umsoweniger auffallend große oder auffallend kleine, je mehr ihre Grösse vom Mittel entfernt ist. Die genauesten Untersuchungen über die Körpergröße hat Erismann gemacht. Sie erstrecken sich auf 100 000 Moskauer Arbeiter, und er fand dieses Gesetz in glänzender Weise bestätigt. Weiter wurde die Kollektivmaßelehre in der Anthropologie bestätigt. Die Bedeutung für diese hat später besonders Stieda hervorgehoben. Andere Untersucher wie Pearson und Fechner arbeiteten nicht mit dem einfachen Binominalgesetz, sondern mit dessen logarithmischer Verallgemeinerung. Dagegen waren Ranke und Greiner der Meinung, daß dieses eine Erschwerung der Berechnung bedeutet, die nicht in dem richtigen Verhältnis zu den erzielten Resultaten stehe und kehrten zu den alten Methoden zurück. Weitere Messungen bringen die Lehrbücher der Vererbungslehre (z. B. Goldschmidt, Einführung in die Vererbungswissenschaft).

Auch in der experimentellen Psychologie wird diese Methode sehr häufig verwendet.

Von Bedeutung für die Bakteriologie ist es besonders, daß sie auch in der Botanik Eingang gefunden hat. Es seien neben den Arbeiten Fechners die Untersuchungen von Quante über die Länge, Gewicht, Dicke der Getreidekörner, -halme und -ähren erwähnt (3, 4).

Deshalb habe ich es auf Anregung von Herrn Prof. Kisskalt unternommen, die Größe der Typhusbacillen mit denselben Methoden exakt festzustellen. Die Messung geschah an mit Fuchsin gefärbten Präparaten, weil diese für die Praxis die meiste Bedeutung haben; einmal auch an einem Tuschepräparat und zwar von derselben Kultur, von der eines der Fuchsinpräparate angefertigt wurde, um den Einfluß der Präparation feststellen zu können.

Sie geschah in der Weise, daß die Mikroorganismen auf eine Mattscheibe projiziert und mit dem Meßzirkel abgetastet wurden; die Umrechnung geschah durch die Projektion der Teilstriche eines Objektmikrometers. Die Größe der Bacillen betrug auf der Mattscheibe etwa 1 cm, so daß die Bruchteile von einem  $\mu$  genau abgelesen werden konnten. Diese Methode ist die exakteste aller Methoden.

Die Berechnung geschah in folgender Weise: In die Spalte 1 einer Tabelle wurde die Größe, in Spalte 2 die Zahl der Bakterien für jede Größe eingetragen. Hierauf wurde geschätzt, wo etwa die Mitte der Gesamtzahl liege und die Differenz der Größe der übrigen Bakterien plus oder minus in die nächste Spalte 3 eingetragen. Spalte 2 und 3 wurden multipliziert und in Spalte 4 das Produkt vermerkt. Die hier stehenden positiven und negativen Zahlen wurden addiert, wobei sich öfters eine negative Zahl ergab, und die Summe durch die Gesamtzahl der Bakterien dividiert. Der oben angenommene Nährungswert und die soeben gefundene Zahl wurden addiert und ergaben den Argumentdurchschnitt (die durchschnittliche Größe der Bakterien). Nunmehr wurde in Spalte 5 die positive und negative Abweichung der Größe von diesen eingetragen und in die nächste Spalte 6 das Produkt aus ihr und der Zahl der Bakterien der betreffenden Größe. Die Summe der Zahlen in Spalte 6 dividiert durch die Gesamtzahl der Bakterien ergibt die „durchschnittliche Abweichung“. In Spalte 7 wurden die Quadrate der Abweichung vom Argumentdurchschnitt geschrieben, in Spalte 8 das Produkt aus diesen und die Zahl der Bakterien. Die Summe der Zahlen in Spalte 8 wurde durch die Gesamtzahl der Bakterien dividiert; die Wurzel aus dem Quotienten ist die „mittlere Abweichung“ (Streuung). Die wahrscheinliche Abweichung wurde in der Weise bestimmt, daß die Gesamtzahl durch 4 dividiert wurde, resp. die letzten Einzelzahlen der Bakterien subtrahiert, bis 0 erreicht war.

Die mittlere Abweichung sagt, daß die Größe eines beliebigen Bakteriums ebenso wahrscheinlich innerhalb wie außerhalb dieser Grenze fällt. Die wahrscheinliche Abweichung ist die Entfernung einer Grenze vom Argumentdurchschnitt.

Der mittlere Fehler des Mittelwertes ist die wahrscheinliche Abweichung dividiert durch die Wurzel der Gesamtzahl der Bakterien.

Der Mittelwert ist der Argumentdurchschnitt plus oder minus dem mittleren Fehler des Mittels.

Der Scheitelwert liegt in der Bakterienlänge, welche die meisten Individuen in sich begreift.

Der Zentralwert wird gefunden, indem die Gesamtzahl durch 2 dividiert und die Zahl der Bakterien so lange addiert wird, bis der

Wert erreicht ist, die Zahl plus, bei welcher dies erreicht ist, heißt Zentralwert.

Die erste nach dieser Methode berechnete Tabelle sei ausführlich mitgeteilt. Benutzt wurde der Stamm S, welcher schon zweimal sicher den menschlichen Körper passiert hat. Einer der Assistenten des Instituts hatte sich infiziert und aus ihm war der Stamm reingezüchtet worden, hatte also innerhalb ganz kurzer Zeit zweimal den menschlichen Körper passiert. Er befindet sich jetzt wieder seit 3 Jahren auf künstlichem Nährboden (Tabelle I). Man sieht daran, daß die Größe dieses

Tabelle I.  
Stamm S. Agar 37°. 24 Std.

Größe	Zahl			Abweichung	Abweichung mal Zahl	Abweichung 2	Abweichung und Zahl
1	2	3	4	5	6	7	8
0,6	3	— 1	— 3	— 1,32	3,96	1,7424	5,1
0,8	5	— 0,8	— 4	— 1,12	5,6	1,2544	6,5
1	35	— 0,6	— 21	— 0,92	32,2	0,8464	2,8
1,2	58	— 0,4	— 23,2	— 0,72	41,76	0,5184	29,0
1,4	85	— 0,2	— 17	— 0,52	44,2	0,2704	25,5
1,6	86	0	0	— 0,32	27,5	0,1024	8,6
1,8	79	0,2	15,8	— 0,12	9,48	0,0144	0,79
2	94	0,4	37,6	+ 0,08	7,52	0,0064	0,564
2,2	54	0,6	32,4	0,28	15,12	0,0784	4,32
2,4	51	0,8	40,8	0,48	24,48	0,2304	10,2
2,6	28	1	28	0,68	19,04	0,4624	14
2,8	24	1,2	28,8	0,88	21,12	0,7744	19,2
3	9	1,4	12,6	1,08	9,72	0,1664	10,8
3,2	13	1,6	20,8	1,28	16,64	1,6384	20,8
3,4	8	1,8	14,4	1,48	11,84	2,1904	17,6
3,6	5	2	10	1,68	8,40	2,8224	14
3,8	1	2,2	2,2	1,88	1,88	2,5344	3,5
4	5	2,4	12	2,08	10,40	4,3264	21,5
4,2	1	2,6	2,6	2,28	2,28	5,1984	5,2
4,8	1	3,2	3,2	2,88	2,88	8,2944	8,3
5	2	3,4	6,8	3,98	6,16	9,4864	19
6,4	1	4,8	4,8	4,48	4,48	20,0704	20,0
7,6	1	6	6	5,68	5,68	32,2629	32,3
8,4	1	6,8	6,8	6,78	6,48	41,9904	42
	650		217,4		338,82		366,9

1) Summa der Bakterien (Kollektivgegenstand) = 650.

2) Summa der Abweichung  $- 68,2 + 285,6 = 217,4$ .

3) Die Abweichung dividiert durch die Zahl der Bakterien  $217,4 : 650 = 0,33$ .

4) Argumentdurchschnitt  $1,6 + 0,32 = 1,93$ .

5) Durchschnittliche Abweichung  $338,82 : 650 = 0,52$ .

6) Mittlere Abweichung  $\sqrt{\frac{366,9}{650} = \frac{19,04}{25,06} = 0,72}$ .

7) Mittlerer Fehler des Durchschnittes  $\frac{0,72}{\sqrt{650}} = \frac{0,72}{25,5} = 0,02$ .

8) Mittelwert  $1,93 \pm 0,02$ .

9) Scheitelwert 2.

10) Wahrscheinliche Abweichung  $650 : 4 = 162,5$ .

11) Zentralwert  $(650 : 2 = 325) 1,8$ .

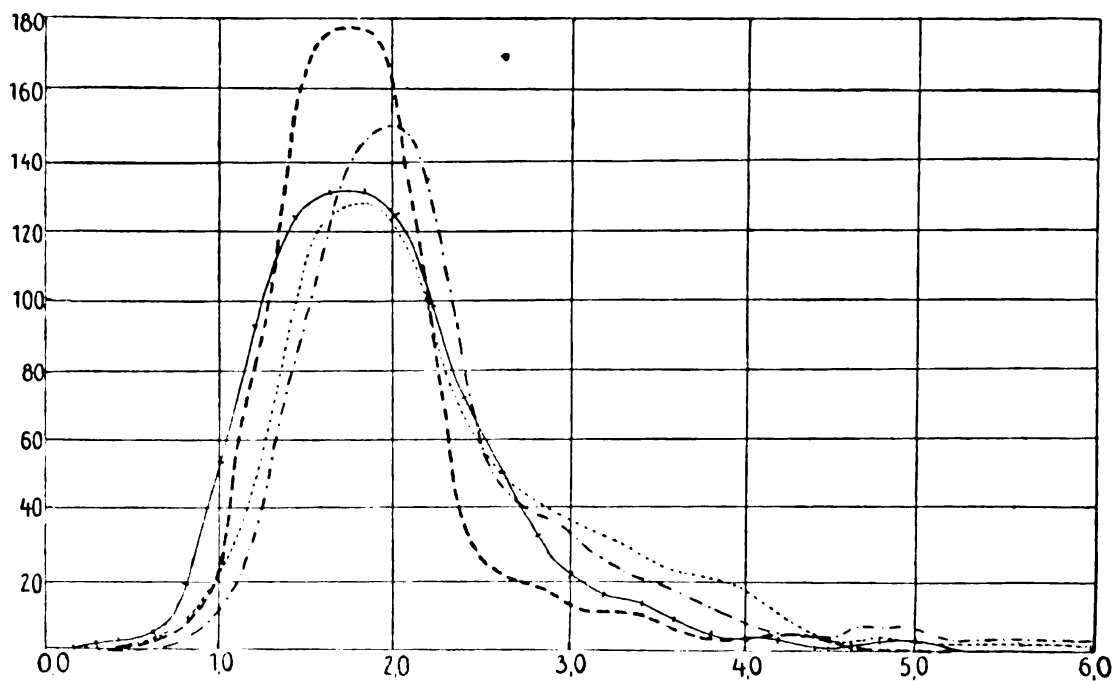
Stammes unter den erwähnten Bedingungen  $1,93 \mu$  beträgt mit einer wahrscheinlichen Abweichung vom Mittel von  $\pm 0,03$  und einer Streuung von  $0,72$ , wobei für die Abweichung noch die anderen Zahlen zu berücksichtigen sind. Gezeichnet

8\*



Tabelle II.

	S	3689	3885a	3885g
0,0	0	0	0	0
0,2	0	0	0	0
0,4	2	0	0	0
0,6	4	2	2	0
0,8	18	6	6	4
1,0	52	28	24	16
1,2	92	82	50	44
1,4	122	148	92	90
1,6	130	178	124	128
1,8	130	180	126	148
2,0	124	160	124	150
2,2	98	94	100	116
2,4	72	34	66	70
2,6	50	22	50	44
2,8	32	20	42	38
3,0	22	12	38	32
3,2	16	10	34	24
3,4	14	10	28	20
3,6	8	6	24	16
3,8	4	2	22	12
4,0	4	2	18	8
4,2	2	2	10	4
4,4	0	2	4	4
4,6	0	0	2	8
4,8	2	0	2	8
5,0	2	0	2	6
	0	0	2	2
	0	0	2	2
	0	0	2	2
	0	0	2	2
	0	0	2	2
6,0	0	0	2	2
	1000	1000	1000	1000



Auf Agar bei 37° gewachsene Stämme. Abszisse: Länge in  $\mu$  (größere Längen als 6 sind fortgelassen). Ordinate: Zahl der Bakterien jeder Länge.

man die Länge als Abszisse, die zugehörige Zahl als Ordinate auf, so findet man, ebenso wie bei den folgenden Messungen, zwei Gipfel. Da jedoch überhaupt immer bei jeder zweiten Zahl eine Abweichung zu bemerken ist, so dürfte dies ein zufälliger, bei der Kürzung entstandener Fehler sein, und nicht zu weitgehenden Schlüssen berechtigen. Er kann leicht korrigiert werden, wenn man die Hälfte jeder Zahl zur vorangehenden und nachfolgenden addiert. Dies ist in Tabelle II geschehen; gleichzeitig wurde zum Zwecke eines besseren Vergleichs eine Umrechnung auf 1000 vorgenommen. Die Zahlen sind auf der Figur graphisch dargestellt.

Die nächsten Tabellen sollen nicht in dieser Ausführlichkeit mitgeteilt werden, nur die Zahlen für das Urmaterial und die definitiven Resultate für die drei anderen Typhusstämmen, welche auf Agar gezüchtet wurden, bei 37° während 24 Stunden. Von diesen war der Stamm 3885a und der Stamm 3885g seit  $\frac{1}{4}$  Jahr (sie stammten aus demselben Falle) und der Stamm 3689 seit etwa  $1\frac{1}{2}$  Jahren auf künstlichem Nährboden.

Als Ergebnis aus allen diesen Messungen ziehe ich folgende Schlüsse:

1) Die Größe der Typhusbacillen wurde festgestellt wie oben resp. wie in Tabelle IV angegeben.

2) Die Kurve der Größe der Typhusbacillen ist keine Binomialkurve. Sie ist ziemlich stark asymmetrisch, indem die auffallend langen Formen schon auf Agar häufiger sind als die sehr kurzen (Tabelle III). Es ist aber höchst merkwürdig, zu beobachten, wie sich diese Größenverteilung doch im ganzen bis auf die kleinsten Lebewesen, bis auf Größen von Bruchteilen von Mikromillimetern, herab erstreckt.

3) Die Größe der Typhusbacillen auf Agar bei 37° ist verschieden nach den Stämmen. Ein frisch gezüchteter hatte eine durchschnittlich bedeutendere Größe als alte. Der Scheitelwert war ein etwas größerer, außerdem waren lange Formen etwas häufiger (siehe Tabelle III u. IV).

4) Die Bacillen, welche auf Gelatine gewachsen sind, sind länger wie jene, welche auf Agar gewachsen sind; außerdem ist die wahrscheinliche Abweichung größer, d. h. es finden sich bedeutendere Größendifferenzen unter ihnen.

5) Gelatinebacillen sind im allgemeinen größer als Agarbacillen; dies kommt von der höheren Temperatur, bei der sie im allgemeinen gezüchtet werden. Züchtet man nämlich auf Agar bei 22°, so erhält man ebenfalls recht große Bacillen (siehe Tabelle III u. IV).

6) Nicht in den Flammen fixierte Bacillen (Tuschepräparate) haben eine größere Länge als fixierte; erstere dürften die natürliche Länge aufweisen, letztere geschrumpft sein.

Schließlich wurde noch eine Anzahl der Bacillen gemessen, welche aus dem menschlichen Körper resp. dem Tierkörper stammen; die Messungen geschahen nur mit Okular- und Objektmikrometer. Die kulturellen Untersuchungen, sowie die sämtlichen folgenden Untersuchungen hatten überall eine absolut reine Kultur gezeigt. Das erste Präparat war ein Schnittpräparat aus Milz, die 48 Stunden nach dem Tode fixiert wurde. Die Länge war folgende: 3; 3; 2; 2; 3;  $2\frac{1}{2}$ ; 2;  $3\frac{1}{2}$ . In ihrer Größe entsprechen die Bacillen etwa den bei 22° gewachsenen. Ferner wurde ein Ausstrichpräparat aus einer Milz untersucht, das 2 Stunden nach dem Tode angefertigt wurde; es ergaben sich folgende Zahlen: 1,5; 1,25; 1,75; 2; 1,75; 1,5; 2; 1,5. Diese Zahlen

Tabelle III.  
Urmaterial.

	Stamm 3885a	Stamm 3885g	Stamm 3689	Stamm S	Stamm S	Stamm S
	Agar 37° 24 Stunden	Agar 37° 24 Stunden	Agar 37° 24 Stunden	Agar 22° 24 Stunden Fuchsin	Gelatine 22° 24 Stunden	Agar 22° 24 Stunden Tusche- präparat
Größe	Zahl	Zahl	Zahl	Zahl	Zahl	Zahl
0,6	0	0	1	0	0	0
0,8	3	1	1	0	0	0
1	11	5	9	0	7	0
1,2	33	27	42	18	17	8
1,4	47	49	85	9	21	40
1,6	104	97	108	30	51	10
1,8	54	78	87	15	26	33
2	101	116	110	51	50	24
2,2	53	65	43	30	20	43
2,4	43	46	7	53	50	28
2,6	27	18	15	14	25	58
2,8	26	30	12	107	35	18
3	25	17	3	12	25	46
3,2	20	14	6	17	55	14
3,4	18	12	8	4	22	91
3,6	15	13	1	10	14	12
3,8	14	4	1	3	12	21
4	13	8	1	22	30	10
4,2	5	0	1	1	5	20
4,4	1	3	1	2	10	8
4,6	2	3	0	2	5	7
4,8	2	8	0	1	4	5
5	1	1	0	0	2	15
5,2	1	2	0	1	5	3
5,4	0	0	0	0	2	17
5,6	1	3	0	0	1	6
5,8	1	0	0	1	1	5
6	1	1	0	2	2	2
6,2	0	0	0	0	0	2
6,4	1	0	0	1	2	2
6,6	0	0	0	0	3	1
6,8	0	0	0	0	0	1
7	0	0	1	0	0	1
7,2	2	3	0	0	0	0
7,4	0	0	0	0	0	0
7,6	0	0	0	1	0	3
7,8	1	0	0	0	0	0
8	0	3	1	0	3	0
8,2	0	1	0	0	0	1
8,4	0	0	0	0	0	1
8,6	1	0	0	0	0	0
8,8	0	0	0	1	0	0
9	0	0	0	0	1	0
9,6	1	0	0	0	0	0
9,8	0	1	0	0	0	0
10	0	0	0	1	0	0
10,4	1	0	0	0	0	0
10,6	1	0	0	0	0	0
10,8	1	0	0	0	0	0
11	1	1	0	0	0	0
11,8	0	0	0	0	1	0
12,4	0	0	0	0	1	0
23,4	0	0	0	0	1	0
24,4	0	0	0	0	1	0

Tabelle IV.  
Definitive Resultate für die Tabelle III.

	Stamm 3885a	Stamm 3685g	Stamm 3689	Stamm S Agar 22°	Stamm S Gelatine 22°	Stamm S Agar 22° Tusche- präparat
Argumentdurchschnitt	2,32	2,26	1,84	2,61	2,9	3,41
Durchschnittliche Ab- weichung	0,76	0,73	0,39	0,64	1,1	0,94
Mittlere Abweichung	1,19	1,1007	0,061	0,9	1,7	0,99
Mittlerer Fehler des Durchschnitts	0,048	0,043	0,026	0,04	0,07	0,04
Mittelwert	$2,32 \pm 0,048$	$2,26 \pm 0,043$	$1,84 \pm 0,026$	$2,61 \pm 0,04$	$2,9 \pm 0,07$	$3,41 \pm 0,04$
Scheitelwert	2,3	2,3	2,0	3,5	3,2	3,5
Wahrscheinliche Ab- weichung	1,6—2,8	1,6—2,6	1,4—2,2	2,0—2,8	2,4—3,4	2,3—3,5
Zentralwert	2,2	2,0	1,8	2,6	3,0	2,9
Summa der Bakterien	629	630	544	409	510	556

entsprechen den in künstlicher Kultur bei 37° gewachsenen Bacillen. Demnach scheint es, daß die Länge auch im menschlichen Körper nur von der Temperatur abhängig ist.

Nicht im Einklang hiermit steht allerdings eine Messung an Bacillen eines Präparates, welches durch Ausstrich aus einer bei einer Operation gewonnenen Galle (4) etwa 2 Stunden nach Herausnahme der Gallenblase angefertigt worden war. Diese ergaben folgende Zahlen: 2,5; 4,75; 1,5; 3,5; 3,0; 3,5; 4,75.

Diese Bacillen sind bedeutend größer, es dürfte dieses von dem anderen Nährmaterial kommen, immerhin könnte man auch an einen gewissen Zusammenhang mit der Virulenz denken.

Schließlich wurde noch ein Präparat angefertigt, das dadurch gewonnen wurde, daß Typhusbacillen einem Kaninchen ins Ohr injiziert wurden. Es entstand dadurch ein kleiner Eiterherd; die darin gefundenen Bacillen hatten eine Länge von: 2,3; 0,5; 0,5; 0,75; 2,5; 1; 0,5; 0,3. Es sind dies die kleinsten von mir gemessenen.

Herrn Prof. Dr. Kisskalt und Herrn Privatdozenten Dr. Kaluza danke ich bestens für die Anregung und Unterstützung bei dieser Arbeit.

#### Literatur.

- 1) **Erismann**, Körperliche Entwicklung der Fabrikarbeiter in Zentralrußland. (Brauns Arch. f. soz. Gesetzgebung u. Statistik. Bd. I. 1889.)
- 2) **Stieda**, Ueber die Anwendung der Wahrscheinlichkeitsrechnung in der anthropologischen Statistik. (Arch. f. Anthropol. Bd. 14. 1882.)
- 3) **Quante**, Die Grundlage der Variationsstatistik und ihre praktische Anwendung. (Tüftings Landwirtschaftl. Zeitung. 1912. No. 61. p. 116.)
- 4) —, Variationsstatistische Untersuchungen über den Bau der Getreidearten unter Zugrundelegung der Kollektivmaßlehre. (Die Landwirtschaftl. Versuchsstat. 1910. p. 123.)
- 5) **Kisskalt**, Kasuistische Mitteilungen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906. p. 701.)

*Nachdruck verboten.*

## Bemerkungen zur Frage der Typenumwandlung von Tuberkelbacillen.

Von Professor F. Neufeld.

In einer in Bd. 70. Heft 5/6 dieses Centralblattes veröffentlichten Arbeit geht Eber auf die Publikation von Dold, Lindemann und mir (dieses Centralblatt Bd. 65. p. 467) ein, in welcher wir über den negativen Verlauf unserer Nachprüfung der früheren Versuche von Eber, betreffend die Möglichkeit einer Umwandlung humaner in bovine Tuberkelbacillen, berichtet haben. Gegen unsere Versuche erhebt nun Eber den Einwand, daß unsere Versuchsanordnung nicht unwesentlich von der seinigen abgewichen sei, indem wir die den Rindern zu injizierenden Meerschweinchenorgane mit Seesand im Mörser fein verrieben hätten; er habe dagegen die Organe nur mit der Scheere zerkleinert, so daß zahlreiche größere Partikel injiziert wurden. Auf die Injektion gröberer Gewebspartikel sei von ihm stets besonderer Wert gelegt worden, weil die dadurch bedingte Reizung des Bauchfelles das „Haften“ der Tuberkelbacillen und die Anpassung an den neuen Nährboden, nämlich den Tierkörper, erleichtere. Außerdem sei bei unseren Versuchen für die intraperitoneale Injektion eine höhere Einstichstelle gewählt worden als bei den seinigen.

Bereits in seinen früheren Veröffentlichungen hatte Eber mehrfach darauf hingewiesen, daß das „Haften“ bei der intraperitonealen Einspritzung der Rinder, d. h. die Entwicklung einer lokalen Bauchfelltuberkulose, durch besondere Reizstoffe begünstigt werde. Diese Reizstoffe hatte er zuerst in dem menschlichen Ausgangsmaterial, dann in den Meerschweinchenorganen vermutet; jetzt wird, wie erwähnt, auch auf die Größe der Partikel des zu injizierenden Organbreies besonderer Wert gelegt. Alle diese Vermutungen sind, wie ich glaube, bereits durch Ebers eigene Versuche widerlegt. Dieselben ergaben nämlich die relativ zahlreichsten positiven Erfolge überhaupt nicht bei Verimpfung von Organverreibungen, sondern von Reinkulturen. Schon in unserer früheren Arbeit (p. 478 f.) ist auf diesen wichtigen Punkt hingewiesen worden; da Eber jedoch trotzdem nochmals darauf zurückkommt, so erscheint eine deutlichere Darlegung geboten.

In den Schlußsätzen seiner neuen Arbeit, die, wie Eber sagt, hauptsächlich dazu dienen soll, den Fernerstehenden die Orientierung über seine früher fast ausschließlich in Form von Protokollen mitgeteilten Ergebnisse zu erleichtern, heißt es: „Durch systematische intraperitoneale . . . Verimpfung tuberkulösen Materials von Meerschweinchen, die mit nicht rindervirulentem, tuberkulösem Material vom Menschen oder mit Reinkulturen aus solchem subkutan injiziert sind, auf junge Rinder, ist es uns in einer beschränkten Anzahl von Fällen gelungen, Bauchfellknötchen zu erzeugen, die sich bei gleichzeitiger subkutaner und intraperitonealer Weiterimpfung auf neue Versuchsrinder für diese virulent erwiesen. Der Versuch, dieselbe Wirkung durch gleichzeitige subkutane und intraperitoneale Uebertragung der aus dem Ausgangsmaterial gezüch-

teten Reinkultur auf Rinder zu erzielen, ist im ganzen nur einmal (Fall 19) geglückt.

Dieser letzte (von mir gesperrte) Satz ist meines Erachtens nicht geeignet, dem Leser, der die Protokolle Ebers nicht im einzelnen studiert hat, ein zutreffendes Bild der einschlägigen Versuche zu geben. Zunächst hat die intraperitoneale Verimpfung einer aus dem menschlichen Ausgangsmaterial gezüchteten anscheinend rein humanen Kultur zweimal den Ausgangspunkt für eine gelungene „Umwandlung“ abgegeben, nämlich außer im Fall 19 auch im Fall 27<sup>1)</sup>.

Im letzteren Falle zeigte das erste mit Reinkultur intraperitoneal und gleichzeitig subkutan injizierte Rind mäßig ausgedehnte lokale Bauchfelltuberkulose; die aus diesem Material gezüchtete Kultur erzeugte bei dem nächsten Rind (2. Passage) Tuberkulose des Bauch- und Brustfelles. Die Kultur aus den Brustfellknötchen dieses zweiten Rindes gelang nicht; daher konnte die 3. Passage nicht, wie beabsichtigt, mit Reinkultur gemacht werden, sondern es wurde statt dessen das entsprechende Meerschweinchenmaterial auf ein neues Rind verimpft: dieses ging dann in 46 Tagen an Miliartuberkulose ein. Man kann wohl vermuten, daß die zunächst mißglückten Züchtungsversuche bei weiteren Bemühungen schließlich eine Perlsuchtkultur ergeben hätten, keinesfalls aber darf man den Fall etwa so auslegen, als ob hier die fortgesetzte Verimpfung von Reinkultur auf Rinder negativ, die Impfung von Meerschweinchenorganen dagegen positiv verlaufen sei.

Wieviel negative Ergebnisse mit intraperitonealer Injektion von Bouillonkulturen an Rindern stehen nun diesen beiden positiven gegenüber? Im ganzen kommen hier meines Erachtens einschließlich der soeben erwähnten 2 Fälle nur 5 Versuche in Betracht<sup>2)</sup>, und von diesen ist nur in einem einzigen (Fall 26) die Impfung völlig negativ verlaufen; in den beiden anderen (25 und 30) hatte die Injektion der Kultur eine Bauchfelltuberkulose zur Folge, ohne daß es jedoch gelang, daraus durch weitere Rinderpassagen schließlich eine Perlsuchtreinkultur zu erzielen.

Ich würde daher glauben, daß an Stelle des oben zitierten Schlußsatzes für den Leser, der die früheren Protokolle Ebers nicht im Gedächtnis hat, folgende Fassung ein richtigeres Bild ergeben würde: Der Versuch, dieselbe Wirkung durch gleichzeitige subkutane und intraperitoneale Uebertragung der aus dem Ausgangsmaterial gezüchteten Reinkultur auf Rinder zu erzielen, ist nur 5mal gemacht worden: dabei trat 4mal ein Haften im Peritoneum ein, und in 2 von diesen 4 Fällen gelang es, durch weitere Rinderpassagen schließlich eine völlige Umwandlung in Perlsucht zu erzielen.

Hiernach ist der Prozentsatz der positiven Erfolge bei Verimpfung von Reinkulturen zum mindesten, was den hier in Frage stehenden Erfolg, nämlich das Haften im Peritoneum betrifft, nicht kleiner, sondern größer als bei Injektionen von Organmaterial. Es ist mir daher nicht

1) Zur schnelleren Orientierung sei auf die Tabelle p. 479 der Arbeit von Neufeld, Dold und Lindemann verwiesen, in der die einschlägigen Versuche Ebers übersichtlich zusammengestellt sind.

2) p. 232 der letzten Arbeit Ebers heißt es allerdings bezüglich der Verimpfung des Ausgangsmaterials auf Rinder: „Bei diesen letzten 15 Fällen endlich wurden regelmäßig neben den Rinderimpfungen mit Meerschweinchenmaterial auch solche mit Reinkulturen ausgeführt (5 cg Bouillonkultur subkutan oder je 5 cg gleichzeitig subkutan und intraperitoneal).“ Wenn ich den Ausdruck „regelmäßig“ richtig so auffasse, daß damit gemeint ist „in jedem Falle“, so ist dem Autor hier offenbar ein Irrtum untergelaufen. In der Tat wurden nur bei 7 von den 15 Fällen derartige Impfungen mit Reinkultur ausgeführt; davon scheiden für unsere Betrachtung aus Fall 18, da hier nur subkutan injiziert wurde, und Fall 21, da hier das Ausgangsmaterial schon bovin war, eine Umwandlung also nicht in Frage kommt; es bleiben also 5 Fälle übrig.

verständlich, wie man auf Grund dieser Befunde behaupten kann, daß irgendwelche Reizstoffe aus menschlichen oder Meerschweinchenorganen das Haften der injizierten Tuberkelbacillen in der Bauchhöhle der Rinder begünstigt hätten. Da also der injizierte Organbrei mit dem Erfolg nichts zu tun hat, so kann natürlich auch die Größe der Organpartikel nichts ausmachen.

Bezüglich des meiner Ueberzeugung nach wichtigsten Punktes, nämlich der Möglichkeit, daß bei Ebers positiv ausgefallenen Versuchen bovine Bacillen entweder im Ausgangsmaterial neben humanen enthalten gewesen oder aber im Laufe der Untersuchungen hineingeraten sein können, darf ich auf unsere früheren Ausführungen (p. 475 ff.) verweisen.

Die dort bereits erwähnten Versuche Lindemanns mit künstlichen Mischungen von humanen und bovinen Tb., die manche Analogieen mit Ebers Befunden bieten, sind soeben in den „Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte“ Bd. 45. H. 2 erschienen.

Weiterhin wendet Eber gegen die Beweiskraft unserer Versuche ein, daß dieselben an Zahl zu gering seien, um die Ergebnisse seiner Versuchsreihen zu erschüttern. Sieht man aber näher zu, wie viele von Ebers Fällen für die Umwandlungsfrage als beweiskräftig wirklich in Betracht kommen, so bleiben meines Erachtens nach Abzug der ungenügend untersuchten Fälle nur die 12 Fälle übrig, die in der bereits erwähnten Tabelle unserer ersten Arbeit übersichtlich zusammengestellt sind<sup>1)</sup>. Von uns ist nun ebenfalls menschliches Tuberkulosematerial von 12 Fällen gleichzeitig subkutan und intraperitoneal auf Rinder verimpft worden. Wenn Eber bei seinen 12 Fällen eine erheblich größere Zahl von Einzelimpfungen ausgeführt hat wie wir, so hängt das damit zusammen, daß er in den Fällen, wo ein Haften der Tuberkelbacillen im Peritoneum bzw. eine Umwandlung erzielt wurde, die betreffenden Versuche mehrfach wiederholt hat. Ich würde es für selbstverständlich angesehen haben, wenn sich bei einem unserer Versuche auch nur eine Andeutung einer Umwandlung oder Virulenzsteigerung gezeigt hätte, den betreffenden Fall durch eingehendste Untersuchung unter Verwendung der erforderlichen Zahl von Rindern in jeder Richtung klarzulegen; dazu bot sich uns aber keine Gelegenheit. Von solchen Fällen, in denen bei der ersten Impfung keine Bauchfelltuberkulose eintrat, hat Eber nur in 2 Fällen die Impfung wiederholt, wir in einem Falle. Hiernach darf man wohl unser Versuchsmaterial im Vergleich mit dem von Eber nicht als klein bezeichnen.

Schließlich möchte ich bei dieser Gelegenheit auf einen Passus in der Anmerkung auf p. 229/30 zu Ebers letzter Arbeit zurückkommen. Eber wendet sich hier gegen eine Bemerkung in einer früheren Arbeit von Weber<sup>2)</sup>, in der es heißt, unsere Versuche seien „genau nach der Methode Ebers und in engster Fühlung mit ihm“ ausgeführt worden. In einer Erwiderung hierauf sagt nun Weber an derselben Stelle, es sei von ihm seinerzeit beabsichtigt gewesen, die Nachprüfung der Versuche genau nach Ebers Methode und in engster Fühlung mit ihm auszuführen, infolge seiner Beurlaubung nach Dresden sei jedoch da-

1) Der Fall 11 ist dabei nicht eingerechnet, da hier die Züchtung der Reinkultur nach der 2. Rinderpassage mißlang und die endgültige Virulenzprüfung durch subkutane Injektion am Rinde fehlt.

2) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 64. (Festschrift für Loeffler.)

mals die Ausführung der Versuche in andere Hände übergegangen und nicht ganz in der von ihm beabsichtigten Weise erfolgt.

Da dieser Satz zu einer irrtümlichen Auffassung Anlaß geben könnte, so möchte ich im Einvernehmen mit Herrn Geheimrat Weber mitteilen, daß die Nachprüfung der Eberschen Versuche im Gesundheitsamt erst eingeleitet wurde, als Herr Weber bereits vom Gesundheitsamt beurlaubt war und sich in Dresden befand; die Ausführung der Versuche hat von Anfang an in meinen Händen gelegen. Die Mitwirkung von Herrn Geheimrat Weber beschränkte sich darauf, daß er im Auftrage des Herrn Präsidenten des Kaiserlichen Gesundheitsamtes sich bei Herrn Professor Eber in Leipzig mündlich über dessen Versuche des näheren orientierte und über diese Unterredung (auf die ja Herr Professor Eber bereits Bezug genommen hat) dem Gesundheitsamt Bericht erstattete.

Weiterhin ist es nicht ganz zutreffend, wenn Eber sagt, in der angeführten Arbeit Webers sei erstmalig über diese Versuche berichtet worden; das ist vielmehr von mir selbst sowie von Lindemann auf der internationalen Tuberkulosekonferenz bzw. dem Tuberkulosekongreß in Rom im April 1912 (vgl. den Konferenzbericht und Berl. klin. Wochenschr. 1912. No. 25) geschehen. In der betreffenden Arbeit von Weber sind unsere Versuche in wenigen Worten nur nebenher erwähnt worden, ohne daß überhaupt unsere Namen genannt wurden; schon hieraus geht wohl hervor, daß es sich nicht um einen erstmaligen Bericht über einen wichtigen Gegenstand handelt. In unserer Arbeit haben wir nirgends auf ein Zusammenwirken mit Herrn Prof. Eber Bezug genommen.

Nunmehr wird aber, wie Eber mitteilt, eine neue Versuchsreihe im Gesundheitsamt wirklich in engster Fühlung mit ihm ausgeführt; dabei wird also die Technik der peritonealen Injektion jetzt strikt der in Leipzig geübten entsprechen. Da aber Eber andererseits versichert (p. 245), er werde in Zukunft in allen einschlägigen Fällen das Ausgangsmaterial mit besonderer Sorgfalt daraufhin prüfen, ob dasselbe etwa von Anfang an eine Mischung beider Typen enthält, so darf man hieraus wohl entnehmen, daß auch umgekehrt Eber sich die Erfahrungen des Gesundheitsamtes zunutze machen wird. Es wird sich dabei also wohl herausstellen, welches von den beiden genannten Momenten die Ursache der bisherigen Differenzen gewesen ist. Ich würde es vorgezogen haben, den Ausfall dieser Versuche abzuwarten; da jedoch Eber vorher noch einmal seine Auffassung über die Deutung der bisherigen Ergebnisse dargelegt hat, so glaubte ich, auch auf einige Momente hinweisen zu sollen, die mir gegen diese Auffassung zu sprechen scheinen.

---



*Nachdruck verboten*

## Ueber die Wanderung des Cholera-vibrios im Körper des befallenen Tieres.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Sassari. Vorstand: Prof. Cl. Fermi.]

Von Dr. U. Cano,

Privatdozenten der Hygiene an der Kgl. Universität Sassari.

### Uebergang der Cholera-vibrionen in das Blut und andere Organe per os infizierter Tiere.

Viele Forscher leugnen die Durchdringlichkeit der Darmwand für Cholera-vibrionen, andere haben ihre Gegenwart in den Organen und im Blute an Cholera gestorbener Individuen angegeben. Das wurde auch von Sewastianoff (1) in Rußland bestätigt, der Cholera-vibrionen in verschiedenen Organen an Cholera gestorbener Leute und im Harne von Cholera-kranken fand.

In El Tor konnte ich (2) Vibrionen im durch Katheter spärlich gewonnenen Harne einer cholera-kranken Frau nachweisen und aus der Schleimhaut der Harnblase eines an Cholera gestorbenen Mannes isolieren.

Einige Versuche von Sewastianoff mit Meerschweinchen bestätigen die Annahme von Tizzoni, Cattani (3) und Rekowsky (4), daß der Uebertritt der Cholera-vibrionen schon im Leben erfolgt, während Diatropoff (5), Lesage und Macaigne (6) nur einen postmortalen Uebergang zugeben.

Mit jungen Kaninchen habe ich einige Versuche ausgeführt, um festzustellen: 1) die Gegenwart des Kochschen Vibrio im Blute und in verschiedenen Organen; 2) ob er die Darmwand bei noch lebendigen Tieren durchdringen kann.

**Versuchsmethode.** Um mit Darmcholera noch nicht 20 Tage alte Kaninchen zu impfen, gab ich per os 5 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur. Zur Impfung diente der oben erwähnte Stamm aus der Blasen-schleimhaut eines an Cholera gestorbenen Mannes von El Tor; dieser Vibrio war während der Krankheit im Harne nie aufgetreten. Zur Identifizierung habe ich die üblichen Immunitätsreaktionen angewandt; außerdem fand ich die Bandische Methode (7) sehr vorteilhaft. In der folgenden Tabelle sind die positiv gelungenen unter 20 Versuchen zusammengestellt:

Tier No.	Alter Tage	Es lebte noch Stunden	Gegenwart von Cholera-vibrionen im						
			Herzblute	Unter-kiefer-drüsen	Leber	Nieren	Harn-blase	Harn	Darm
1.	8	24	+	+	+	+	+	+	+
2.	10	24	0	0	0	0	0	0	+
3.	10	26	0	0	0	+	+	+	+
4.	12	24	0	0	0	0	0	0	+
5.	12	24	0	0	0	+	0	0	+
6.	12	24	+	+	+	+	0	Anurie	+
7.	16	30	+	+	0	+	+	+	+
8.	18	30	+	0	0	0	+	0	+
9.	18	38	0	0	0	+	0	+	+

Um den Zeitpunkt der Blutinvasion festzustellen, wurden einzelne Kaninchen 6 Stunden nach der Kulturverabreichung geopfert und untersucht.

Tier No.	Alter Tage	Gegenwart von Cholera-vibrionen im						
		Herzblute	Unterkieferdrüsen	Leber	Nieren	Harnblase	Harn	Darm
1.	12	0	+	0	+	0	+	+
2.	20	0	0	0	0	0	0	+
3.	20	+	0	0	.	0	0	+

### Schlußfolgerungen.

1) In verschiedenen Organen der an experimenteller Cholera gestorbenen Kaninchen ließ sich die Gegenwart von Cholera-vibrionen feststellen.

2) Cholera-vibrionen konnten im Herzblute, in den Unterkieferdrüsen, den Nieren, im Harn und in der Darmwand 6 Stunden nach der Impfung nachgewiesen werden.

Dadurch wird die Annahme bestätigt, daß Kochsche Vibrionen die Darmwand des noch lebendigen Tieres durchdringen können.

### Literatur.

- 1) Sewastianoff, E. P., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 65. 1910.
- 2) Cano et Wiener, Rapport sur l'apparition des vibrions dans les urines des cholériques. (Conseil sanit. maritime et quarant. d'Egypte. 1913.)
- 3) Tizzoni e Cattani, Zieglers Beitr. Bd. 3.
- 4) Rekowski, Arch. d. biolog. Wissensch. 1892.
- 5) Diatropoff, Dtsch. med. Wochenschr. 1894.
- 6) Lesage et Macaigne, Ann. Inst. Pasteur. Vol. 7. 1893. No. 1.
- 7) Bandi, J., Rivista crit. di Clinica med. T. 11. No. 47. 48. 49. 50.

### Uebergang in die Exkremente der durch die Blutbahn eingeführten Cholera-vibrionen.

Besonders wichtig erscheint die Feststellung, ob durch das Blut eingeführte Cholera-vibrionen die Darmwand durchdringen und sich im Kote und im Harn wiederfinden. Daraus dürfte man schließen, daß Cholera-vibrionen nicht nur die pathologisch veränderte Darmwand des an Cholera kranken oder gestorbenen Tieres, sondern auch die vermutlich unversehrte Darmwand eines nicht cholera-kranken Tieres wenigstens in der Richtung vom Blute nach dem Darminhalt hin durchdringen können. Zweitens dürfte sich eine weitere Bestätigung des von mir beobachteten Durchtrittes während des Lebens des befallenen Tieres im Gegensatz zur Behauptung von Diatropoff, Lesage und Macaigne ergeben. Die Gegenwart des Cholera-vibrio im Harn würde auch die Möglichkeit einer Elimination durch die Nieren beweisen.

Verschiedene Forscher haben eine Ausstoßung von intravenös eingeführten Bakterien durch die Exkremente nachgewiesen. Richet fils und Saint-Girons (1) beobachteten den Uebergang zum Darminhalt von in die Ohrrendvene geimpften *Pneumococcus*, *B. dysenteriae*, Eberth'schen, Koch'schen Bacillen und anderen Mikroorganismen. Vor

einigen Jahren hatte Thomas (2) durch intravenöse Impfung von Cholera vibrionen eine Lokalisation und darauf folgende Entzündung im Darne junger Kaninchen erzielt. Kolle und Issaëff (3) haben ähnliche Resultate durch Impfung des Cholera vibrio in die Ohrvene junger Kaninchen erhalten. Baroni und V. Ceaparu (4) beobachteten den Uebergang des Cholera vibrio zum Darminhalte 1 Stunde nach der Impfung in die Ohrvene ausgewachsener, 1200—1800 g schwerer Kaninchen.

Diese Forscher haben allerdings Vibrionen im Harne niemals gefunden. Ich führte einige Versuche aus, um ihre Gegenwart im Kote, in den Nieren, der Harnblase und im Harne intravenös geimpfter Kaninchen festzustellen.

**Versuchsmethode.** 2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur des Cholera vibrio wurden in die Ohrwandvene junger, 300 g schwerer Kaninchen gebracht. Zu diesen Versuchen diente der in der vorigen Mitteilung erwähnte Cholera vibrio aus der Blasenschleimhaut eines an Cholera gestorbenen Mannes von El Tor. Zur Erkennung habe ich die Bandische Methode benutzt, indem das Material der Oberfläche einer 12 Stunden bei 36° C gehaltenen Aufschwemmung in Peptonwasser entnommen wurde.

Versuchstier	Es lebte noch Stunden	Gegenwart von Cholera vibrien in			
		Nieren	Harnblase	Harn	Darminhalt
29. Mai 1913					
1 Kaninchen	8	+	+	+	+
1 „	10	+	+	0	+
11. Juni 1913					
1 Kaninchen	15	0	0	0	+
1 „	8	+	+	0	+
17. Juni 1913					
1 Kaninchen	18	+	0	0	+
1 „	10	+	0	+	+

**Schluß.** Cholera vibrionen waren im Kote, in den Nieren, der Harnblase und im Harne von intravenös geimpften Kaninchen nachzuweisen.

#### Literatur.

- 1) Richet fils et Saint Girons, Compt. Rend. Soc. Biol. T. 70. 23 déc. 1911.
- 2) Thomas, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 32. 1893.
- 3) Kolle u. Issaëff, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 18. 1894.
- 4) Baroni et Ceaparu, Réunion biolog. de Bukarest. 16. Mai 1912. — Compt. Rend. Soc. Biol. T. 72. 1912. No. 20.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Diphtheriebacillen.

[Aus dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin (Geh. Rat Proskauer);  
hygienisch-bakteriologische Abteilung (Prof. Sobornheim).]

Von Dr. Erich Seligmann.

Die Frage nach dem Zusammenhang bzw. der Trennbarkeit von echten Diphtheriebacillen, avirulenten Formen und Pseudodiphtheriebacillen ist fast so alt wie unsere Erkenntnis von der Aetiologie der Diphtherie, ohne daß sie bis heute in endgültigem Sinne entschieden werden konnte. Ja selbst über die Begriffsbestimmung Pseudodiphtheriebacillus herrscht keine völlige Uebereinstimmung. Während nach Loeffler die Species Pseudodiphtheriebacillus eine für Meerschweinchen avirulente Bakterienart ist, die sich auch bei makroskopischer Betrachtung (Agarkultur) leicht vom Diphtheriebacillus unterscheidet, nannte Roux auch jeden sonst mit dem Diphtheriebacillus völlig übereinstimmenden, aber avirulenten Stamm einen Pseudodiphtheriebacillus. Er behauptete ihre enge Zusammengehörigkeit mit den virulenten Formen und gab an, daß in der Natur sich „alle Zwischenstufen zwischen dem echten und dem Pseudodiphtheriebacillus“ vorfinden. v. Behring griff die Frage vom Opportunitätsstandpunkt an und schlug vor, wie er meinte, im Sinne von Loeffler und Roux, sich um die avirulenten Diphtheriebacillen vom hygienisch-prophylaktischen Standpunkte aus überhaupt nicht zu kümmern, gleichgültig, ob man sie genetisch mit den virulenten Erregern der Bretonneauschen Diphtherie identifiziert oder nicht. „In der Tat haben auch Loeffler und Roux längst aufgehört, an dem Kampf um die botanische Stellung der sogenannten Pseudodiphtheriebacillen sich zu beteiligen, und es ist nur noch die Schar der Kleinen in der medizinischen Bakteriologie, welche unermüdlich die Sisypusarbeit des Suchens nach konstanten und charakteristischen Unterscheidungsmerkmalen zwischen echten Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen fortsetzt; für diejenigen Forscher, welche wissen, daß mit der sich verändernden Virulenz immer auch mehr oder weniger zahlreiche morphologische und kulturelle Umwandlungen verbunden sind, konnte es nichts Ueberraschendes sein, wenn die Bacillenzahl, die Lagerung der Bacillen zueinander, die Zweigbildung, die größere oder geringere Neigung Ernstsche Körperchen zu bilden, das mehr oder weniger feuchte und glänzende Aussehen in Agarkulturen als Kriterium für eine botanische Differenzierung beim Diphtheriebacillus sich nicht bewährt haben<sup>1)</sup>.“

Nach diesem etwas spöttischen Urteil gehörte schon ein gewisses Maß von Selbstbescheidung dazu, eine Frage wieder aufzunehmen, die das Spezialobjekt der „Kleinen in der medizinischen Bakteriologie“ geworden sein sollte. Gleichwohl hat sich in der Zwischenzeit eine ganze Anzahl von Forschern an das Thema herangewagt; ich nenne eine kleine Auswahl: Nakanishi, Lambotte (1901), Gioelli (1903), Lewandowsky (1904) mit ausführlichem Literaturverzeichnis, Hamilton, Graham-Smith (1904), Thiel (1907), Rothe (1907), Kuli-

1) Diphtherie. Bibliothek v. Coler.

koff (1910), Mandelbaum und Heinemann (1910), Cathoire, Cadiot et Henry (1911), v. Przewoski, Berry und Banzhaf (1912), Trautmann und Gaethgens, Markl (1913) und viele andere. Wesentlich gefördert worden ist die Grundfrage durch alle diese Arbeiten nicht. Wenn auch ich mich entschlossen habe, einen weiteren Beitrag zu liefern, so bestimmten mich folgende Beweggründe:

1) Die Beobachtung, daß sich gerade in diphtherieverseuchter Umgebung die atypischen und ganz abweichenden Bacillenformen relativ häufig vorfinden.

2) Die weitere Beobachtung, daß bei Dauerausscheidern in der letzten Zeit der Bacillenpersistenz diese Formen deutlich in den Vordergrund treten.

3) Daß in den Nasen jugendlicher Bacillenträger (Säuglinge) abweichende Formen besonders häufig sind und nicht selten zu diagnostischen Schwierigkeiten führen.

4) Die Befunde avirulenter Diphtheriebacillen bei Ozaena.

5) Die Beobachtungen von Bernhard und Paneth und Baerthlein, denen es experimentell gelungen ist, aus echten, virulenten Diphtheriebacillen Formen abzuspalten, die nach Morphologie, Kultur und Virulenz vollkommen von der Ausgangskultur abweichen. Die Möglichkeit, daß es sich hier um Artenumwandlung handelt, ist bei Berücksichtigung der Befunde in der Enteritisgruppe (Sobernheim und Seligmann) nicht von der Hand zu weisen.

6) Kommt es aber innerhalb kürzerer Zeit zu weitergehenden Umwandlungen beim Diphtheriebacillus<sup>1)</sup>, so haben diese Befunde heute doch mehr als ein rein botanisches Interesse, wie v. Behring will. Gewiß wird die praktische Diagnostik vorerst nicht tangiert werden: Kulturell abweichende, avirulente Formen werden nicht für Diphtheriebacillen gehalten werden; typische Diphtheriebacillen werden nur selten unter praktischen Verhältnissen auf ihre Virulenz geprüft werden, auch dann wird man etwaige avirulente Stämme praktisch vom Diphtheriebacillus nicht trennen dürfen; ganz abgesehen davon, daß Tier- und Menschenvirulenz nicht immer parallel zu gehen brauchen, wissen wir noch nicht, ob nicht ein avirulenter Stamm unter besonderen Bedingungen wieder virulent werden kann. Praktisch diagnostisch also wird man sich immer an den charakteristischen mikroskopischen Befund halten dürfen.

Aber für unsere Auffassung von der Heilung des einzelnen Krankheitsfalles, für das Entstehen und Abklingen von Diphtherieepidemien wäre es von wesentlicher Bedeutung, wenn tatsächlich eine Umwandlung typischer Diphtheriebacillen in die abweichenden, avirulenten Formen erfolgte. Und damit kämen letzten Endes auch wieder hygienisch-prophylaktische Fragen zur Debatte.

Wenn tatsächlich, wie Roux annimmt, alle Uebergänge vom echten Diphtheriebacillus bis zum makroskopisch verschiedenen diphtheroiden Bakterium in der Natur vorkommen sollten, so lag es nahe, sie dort zu suchen, wo sie nicht mehr als krankmachende Parasiten, sondern mehr als Schmarotzer sich aufhalten, also bei gesunden Bacillenträgern und bei Rekonvaleszenten und Dauerausscheidern nach Diphtherie. Diese

1) Die Befunde von Bernhard und Paneth im Tierkörper, auch die eigentümlichen Beobachtungen im Urin von Diphtheriekranken von Graef scheinen hierfür Anhaltspunkte zu bieten.

Personen stellen denn auch das Hauptkontingent für unsere Untersuchungen; dazu kommen einige Ozaenafälle und, gleichsam als Kontrolle, eine Reihe von frischen diphtherischen Erkrankungen. Wir haben neben ganz typischen Fällen (klinisch und mikroskopisch-kulturell) besonders solche bevorzugt, die in irgendeiner Hinsicht Besonderheiten zeigten, sei es daß der bakteriologische Befund etwas abwich, sei es daß die Art der Erkrankung (Lippen-, Hautdiphtherie) das Interesse wachrief. Gewöhnlich haben wir aus einem Fall mehrere Kulturen isoliert, mitunter denselben Patienten zu verschiedenen Zeiten untersucht. Die folgenden Tabellen enthalten alle derartigen Einzelheiten.

Im ganzen wurden untersucht:

Von Erkrankungsfällen:	21 Kulturen von 11 Patienten
„ Ozaenafällen <sup>1)</sup> :	3 „ „ 3 „
„ Rekonvaleszenten:	19 „ „ 8 „
„ gesunden Bacillenträgern:	43 „ „ 20 „
insgesamt: 86 Kulturen von 42 Patienten.	

Sämtliche Kulturen wurden durch Agarplattenverfahren gereinigt, wie M. Neisser es verlangt, doch sei betont, daß die nur von Serum gewonnenen Reinkulturen sich sämtlich auch auf Agar als rein erwiesen. Untersucht wurde: Wachstum auf Loeffler- und Tellurserum, auf Agar und in hoher Schicht des Traubenzuckeragars, Wachstum und Säurebildung in Bouillon und auf dem Thielschen Nährboden, mikroskopisches Bild bei der Loeffler-, Neisser- und Gram-Färbung, hängender Tropfen. Die letztere Methode, die keinerlei Unterschiede im besonderen aufwies, ist ebenso wie die Loeffler-Färbung in die Tabelle nicht aufgenommen worden.

Im einzelnen ist hierzu noch zu bemerken: In der Tabelle ist stets der Befund nach 24 Stunden angegeben, weitere Bemerkungen nur dann, wenn die Befunde sich bei 4-tägiger Beobachtung noch änderten. Die Bestimmung der Säurebildung wurde durch Titration mit  $n/_{10}$  NaHO-Lösung (Indikator Phenolphthalein) nach 48-stündiger Bebrütung ausgeführt. Gleichzeitig wurden einige unbeimpfte Bouillonröhrchen, die wie die beimpften 5 ccm Flüssigkeit enthielten, mit bebrütet und geprüft. In der Tabelle ist angegeben, wie viel NaHO die beimpften Röhrchen mehr verbrauchten als die Kontrollen. Die Befunde sind in Tropfen ausgedrückt, da es sich ja nur um Vergleichswerte handelte und absolute Zahlen nicht erforderlich waren; 20 Tropfen entsprechen genau 1,5 ccm  $n/_{10}$  NaHO. Die Kulturen sind mit zwei verschiedenen Bouillonlösungen geprüft worden, deren Anfangsgehalt an Säure ein verschiedener war. Eine dritte Bouillon, die wir auch herangezogen hatten, erwies sich als ungeeignet, da kein Bacillus in ihr Säure entwickelte. Die Gründe für dies eigentümliche Verhalten haben wir nicht erforscht.

Die Prüfung auf Pathogenität wurde in folgender Weise vorgenommen. 5 ccm Bouillon wurden mit Kultur beimpft; nach 24 Stunden wurden je 0,5 ccm pro 100 g Tier einem Meerschweinchen subkutan injiziert. Als positiv wurde der Befund nur dann gedeutet, wenn das geimpfte Tier den typischen Sektionsbefund aufwies: hämorrhagisches Oedem an der Impfstelle, Cyanose der Nebennieren, Pleuritis exsudativa, Pericarditis. Meist war auch noch eine starke Enteritis, nicht selten ein

1) Die Kulturen wurden uns von Dr. Neufeld-Posen freundlichst überlassen.

Tabelle I.  
FrISChe Erkrankungen.

Bezeichnung, Herkunft und ursprüngliche Diagnose nach d. Schmierplatte	Wachstum				
	Loeffler- Serum	Tellurserum	Agar	Trauben- zuckeragar in hoher Schicht	Bouillon; Säure- bildung nach 48 Stunden
A 526 a, Rachen, D.-B. +	cremefarben	tiefschwarz, teilweise grauschwarz	sehr zart	Wachstum bis in die Tiefe	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 6 Tr.
A 526 b	fein, farblos	grauschwarz	sehr zart	dgl.	wie a, 6 Tr.
A 526 c	üppig, grau- weiß	tiefschwarz	sehr zart	dgl.	wie a, 7 Tr.
A 572 a, Rachen, D.-B. +	fein, farblos	schwarzgrau	sehr zart	dgl.	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 5 Tr.
A 572 b	grauweiß	tiefschwarz	zart, grau- weiß	dgl.	wie a, 5 Tr.
A 572 c	zart, creme- farben	tiefschwarz	zieml. reichl. Wachstum, grauweiß	dgl.	wie a, 10 Tr.
A 2253, Rachen, D.-B. + (Dale- sche Formen)	cremefarben	tiefschwarz	zart, grau- weiß	dgl.	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 4 Tr.
A 829 a, Rachen, D.-B. +	gelblich-weiß	tiefschwarz	zart, grau- weiß	dgl.	leichte, diffuse Trübung, 4 Tr.
A 829 b	grauweiß	schwarze und graue Kolo- nien	zart, grau- weiß	dgl.	diffus getrübt, 3 Tr.
1679, Rachen, D.-B. +	grauweiß	braun- schwarz, teilweise tief- schwarz	zart, weißlich	dgl.	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 5 Tr.
C 240 a, Rachen, D.-B. +	elfenbein- farben	schwarze und graue Kolo- nien	reichl., grau- weiß	dgl.	Bodensatz, Flüs- sigkeit leicht ge- trübt, 7 Tr.
C 240 b	cremefarben	tiefschwarz	zart, grau- weiß	dgl.	diffus getrübt, 9 Tr.
A 777 a, Rachen, D.-B. +	grauweiß	tiefschwarz	zart, grau- weiß	dgl.	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 6 Tr.
A 777 b	weiß	tiefschwarz	sehr zart	dgl.	wie a, 5 Tr.
A 777 c	cremefarben	schwarze und graue Kolo- nien	sehr zart	dgl.	wie a, 5 Tr.
S202, Nase(chron- ischer Rachen- katarrh, chron. Wundsein der Nase), D.-B. +	weißlich	schwarze und grau- schwarze Kolonien	sehr zart	dgl.	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 6 Tr.

Tabelle I.  
FrISChe Erkrankungen.

auf Thielschem Nähr- boden	Pathogenität	Mikroskopisches Bild		Bemerkungen
		Neisser-Färbung	Gram-Färbung	
rot koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
rot getrübt, nach 48 St. koaguliert	+ (3 Tage)	typisch	+	
gerötet, nach 48 St. opaleszent	+ (2 Tage)	typisch	+	
rot getrübt, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
rot opaleszent, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
rot koaguliert	+ (24 St.)	etwas lang, sehr stark gekörnt	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+ (24 St.)	typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
rot, nach 48 St. opaleszent	+ (4 Tage)	sehr starke Körne- lung, viele degeneri- erte Formen, auch Dalesche Typen	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (24 St.)	sehr starke Körne- lung, typische La- gerung	+	
rot, nach 72 St. opaleszent	+ (3 Tage)	atypisch; sehr spär- liche Körnelung, plumpe u. schlanke Stäbchen, nur teil- weise in typischer Lagerung	+	
unverändert, nach 48 St. rot, nach 72 St. opaleszent	+ (4 Tage)	typisch	+	
unverändert, nach 48 St. rot, nach 72 St. opaleszent	+ (3 Tage)	typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	sehr stark gekörnt, sonst typisch	+	



Bezeichnung, Herkunft und ursprüngliche Diagnose nach d. Schmierplatte	Wachstum				
	Loeffler- Serum	Tellurserum	Agar	Trauben- zuckeragar in hoher Schicht	Bouillon; Säure- bildung nach 48 Stunden
R 1707, Kopfhaut (Diphth. einer Hautwunde bei einem sonst ge- sunden Bacillen- träger), D.-B. +	zart, grau- weiß	grau	sehr zart	Wachstum bis in die Tiefe	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 7 Tr.
Wai 2404, Ra- chen, D.-B. + (nicht ganz ty- pisch)	grauweiß	tiefschwarz	reichl., grau- weiß	dgl.	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 6 Tr.
Wai 3420 <sub>1</sub> , Lippe (Lippen- diphtherie bei einem sonst ge- sunden Bacillen- träger), D.-B. +	grauweiß	tiefschwarz	sehr zart	dgl.	Spur Bodensatz, Flüssigkeit klar, 4 Tr.
Wai 3420 <sub>2</sub>	grauweiß	tiefschwarz	sehr zart	dgl.	Bodensatz, Flüs- sigkeit klar, 3 Tr.
Wai 3420 <sub>3</sub>	grauweiß	tiefschwarz	zart	dgl.	Bodensatz, Flüs- sigkeit klar, 0 Tr.

Tabelle Ia.  
Ozaena-Diphtherieen von Dr. Neufeld-Posen.

Bezeichnung, Herkunft und ursprüngliche Diagnose nach d. Schmierplatte	Wachstum				
	Loeffler- Serum	Tellurserum	Agar	Trauben- zuckeragar in hoher Schicht	Bouillon; Säure- bildung nach 48 Stunden
Ozaena I	zart, farblos	schwach grau	fein grau, konfluierend	Wachstum bis in die Tiefe	schleimiger Bo- densatz, Flüs- sigkeit klar, 0 Tr.
Ozaena V	zart, grau	hellgrau	zart, etwas trocken	dgl.	Bodensatz, Flüs- sigkeit klar, 3 Tr.
Ozaena XV	cremefarben	grauschwarz	fein grau, konfluierend	dgl.	Bodensatz, Flüs- sigkeit klar, 0 Tr.

auf	Pathogenität	Mikroskopisches Bild		Bemerkungen
Thielschem Nährboden		Neisser-Färbung	Gram-Färbung	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
rot opaleszent, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	sehr spär. Körnelung, auch braune Körnchen, Lagerung typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
unverändert, nach 48 St. rot, keine Koagulation	+ (2 Tage)	typisch	+	
leicht gerötet, bleibt so	+ (2 Tage)	sehr spär. Körnelung, Lagerung typisch	+	

Tabelle Ia.  
Ozaena-Diphtherieen von Dr. Neufeld-Posen.

auf	Pathogenität	Mikroskopisches Bild		Bemerkungen
Thielschem Nährboden		Neisser-Färbung	Gram-Färbung	
gerötet, keine Koagulation	negativ	lange Stäbchen mit zahlreichen Körnchen, z. T. Fadenbildg., dazwischen kürzere, typisch gelagert	+	
unverändert, nach 48 St. rot opaleszent	negativ	sehr lang u. schlank, spär. Körnchenbildung, Lagerung wenig typisch	+	Die Prüfung der frisch übersandten Kultur, 1 Jahr vorher, ergab folgendes mikroskop. Bild: schlanke Stäbchen, etwas lang, Körnelung und Lagerung typisch
unverändert, nach 48 St. rot, bleibt so	negativ	kleine Stäbchen mit ziemlich großen Polkörperchen, sonst typisch, auch in der Lagerung	+	

Tabelle II.  
Rekonvaleszenten und Dauerausscheider.

Bezeichnung, Herkunft und ursprüngliche Diagnose nach d. Schmierplatte	Wachstum				
	Loeffler- Serum	Tellurserum	Agar		Bouillon; Säure- bildung nach 48 Stunden
S N 1, Nase (Rekonvaleszent nach Angina), D.-B. +	üppig, grau-weiß	tiefschwarz	sehr zart		Wachstum bis in die Tiefe
W 289, Rachen (Dauerausscheider s. 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Mon.), D.-B. +	cremefarben	schwarz	zart, weiß	grau-dgl.	körniger Bodensatz, Flüssigkeit klar, 3 Tr.
W 293 <sub>1</sub> , Rachen (Dauerausscheider s. 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Mon.), D.-B. +	grauweiß	braunschwarz	zart, weiß	grau-dgl.	Bodensatz, Flüssigkeit klar, 3 Tr.
W 293 <sub>2</sub> ,	grauweiß	braunschwarz	zart, weiß	grau-dgl.	körniger Bodensatz, Flüssigkeit klar, 7 Tr.
W 293 <sub>3</sub> ,	grauweiß	tiefschwarz	zart, weiß	grau-dgl.	wie 293 <sub>1</sub> , 7 Tr.
W 293 <sub>4</sub> ,	grauweiß	tiefschwarz	zart, weiß	grau-dgl.	wie 293 <sub>1</sub> , 4 Tr.
W 293 <sub>5</sub> ,	grauweiß	tiefschwarz	zart, weiß	grau-dgl.	wie 293 <sub>1</sub> , 6 Tr.
W 293 <sub>6</sub> ,	grauweiß	tiefschwarz	zart, weiß	grau-dgl.	wie 293 <sub>1</sub> , 6 Tr.
A 663 a, Rachen (Rekonvaleszent nach Angina, Schwester Di), D.-B. +	fein, weißlich	schwarzgrau	zart, weiß	grau-dgl.	körniger Bodensatz, Flüssigkeit klar, 4 Tr.
A 663 b	cremefarben	tiefschwarz	zart, weiß	grau-dgl.	wie a, 4 Tr.
A 663 c	fein, weißlich	tiefschwarz	zart, weiß	grau-dgl.	wie a, 4 Tr.
C 233, Rachen (Rekonvaleszent nach Diphtherie), D.-B. + (nicht ganz typisch)	cremefarben	grauschwarz	reichl., weiß	grau-dgl.	Bodensatz, Flüssigkeit klar, 10 Tr.
C 305, Rachen (Dauerausscheider seit ca. 8 Wochen), D.-B. +	gelblich-weiß	schwarze und graue Kolonien	zart	dgl.	körniger Bodensatz, Flüssigkeit klar, 6 Tr.
A 612 <sub>1</sub> , Rachen (Dauerausscheider seit 2 Monaten), D.-B. +	cremefarben	tiefschwarz	zart, weiß	grau-dgl.	körniger Bodensatz, Flüssigkeit klar, 6 Tr.

Tabelle II.  
Rekonvaleszenten und Dauerausscheider.

auf	Thielschem Nährboden	Pathogenität	Mikroskopisches Bild		Bemerkungen
			Neisser-Färbung	Gram-Färbung	
unverändert, nach 48 St. rot koaguliert	+	(2 Tage)	typisch	+	
rot, nach 72 St. opaleszent	negativ, i		sehr starke Körnelung, sonst typisch	+	
rot opaleszent, nach 48 St. koaguliert	negativ, i		typisch	+	Derselbe Patient wie W 289, 1 Monat später
rot opaleszent, nach 48 St. koaguliert	negativ, i		typisch	+	Die Sammlungskulturen W 293 <sub>1-3</sub> zeigen sowohl auf Agar wie auf Serum mikroskopisch ganz zerfallene, kokkenähnliche Gebilde und ganz deformierte Bacillen, auf der hiervon angelegten 1. Generat. auf Serum d. gleiche Bild. Jetzt Plattenaussaat. Es entwickeln sich Einzelkolonien typischer Diphtheriebacillen (Reinkultur). Von diesen wird abgeimpft, und mit den neuen typischen Kulturen die Prüfung vorgenommen
gerötet, nach 48 St. koaguliert	negativ		typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	negativ		typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	negativ, i		typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	negativ		typisch	+	
rot opaleszent, nach 48 St. koaguliert	+	(3 Tage)	typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+	(2 Tage)	typisch	+	
rot, nach 48 St. opaleszent	+	(2 Tage)	typisch	+	
rot, nach 48 St. opaleszent	+	(4 Tage)	Bacillen starr, etwas gebauchte, Körnchenbildung nicht sehr reichlich, Lagerung typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+	(24 Stunden)	typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+	(2 Tage)	sehr starke Körnelung, auch braune Körnchen, Bacill. polymorph, einige kürzer und plumper, Lagerung wenig typisch. Bei Neuausstrich auf Serumplatte überwiegen d. typisch. Formen	+	

Bezeichnung, Herkunft und ursprüngliche Diagnose nach d. Schmierplatte	Wachstum				
	Loeffler- Serum	Tellurserum	Agar	Trauben- zuckeragar in hoher Schicht	Bouillon; Säure- bildung nach 48 Stunden
A 612 <sub>1</sub>	cremefarben	tiefschwarz	zart, grau- weiß	Wachstum bis in die Tiefe	wie 1, 7 Tr.
A 612 <sub>2</sub>	cremefarben	tiefachwarz	zart, grau- weiß	dgl.	wie 1, 9 Tr.
A 612 <sub>4</sub>	cremefarben	tiefschwarz	zart, grau- weiß	dgl.	wie 1, 8 Tr.
C 592 <sub>1</sub> , Rachen (Dauerausschei- derseit üb. 2 Mo- naten), D.-B. +	grauweiß	tiefschwarz	sehr zart	dgl.	Bodensatz, Flüs- sigkeit klar, 9 Tr.
C 592 <sub>2</sub>	grauweiß	schwarz	sehr zart	dgl.	wie 1, 11 Tr.

Tabelle III.  
Gesunde Personen.

Bezeichnung, Herkunft und ursprüngliche Diagnose nach d. Schmierplatte	Wachstum				
	Loeffler- Serum	Tellurserum	Agar	Trauben- zuckeragar in hoher Schicht	Bouillon; Säure- bildung nach 48 Stunden
R 785 a, Rachen (gesunder Säug- ling), D.-B. +	fein, farblos	grauschwarz	sehr zart	Wachstum bis in die Tiefe	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 4 Tr.
R 785 b	grauweiß	schwarze und graue Kolo- nien	zart, grau- weiß	dgl.	wie a, 9 Tr.
R 900, Nase und Rachen (Säug- ling), D.-B. +	üppig, grau- weiß	tiefschwarz	reichl., grau- weiß	dgl.	diffus getrübt, 0 Tr.
R 791 a, Rachen (Säugling), D.-B. —	üppig, grau- weiß	tiefschwarz	üppig, grau- weiß	dgl.	diffus getrübt mit flockigem Bodensatz, 0 Tr.
R 791 b	üppig, creme- farben	grauschwarz	üppig, grau- weiß	dgl.	wie a, 0 Tr.
R 784 a, Rachen (Säugling), D.-B. —	grauweiß	graubraun	üppig, grau- weiß	dgl.	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 1 Tr.
R 784 b	grauweiß	tiefschwarz	sehr zart	dgl.	diffus getrübt, 4 Tr.

auf	Thielschem Nährboden	Pathogenität	Mikroskopisches Bild		Bemerkungen
			Neisser-Färbung	Gram-Färbung	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+	(2 Tage)	neben typisch geformten und gelagerten Bacillen die gleichen Formen wie bei 612, 1	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+	(2 Tage)	wie 2	+	
unverändert, nach 48 St. rot, koaguliert	+	(2 Tage)	typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+	(2 Tage)	typisch	+	Derselbe Patient wie A 612; 8 Tge. später
unverändert, nach 48 St. rot opaleszent; nach 72 St. koaguliert	+	(2 Tage)	typisch	+	

Tabelle III.  
Gesunde Personen.

auf	Thielschem Nährboden	Pathogenität	Mikroskopisches Bild		Bemerkungen
			Neisser-Färbung	Gram-Färbung	
rot, nach 48 St. koaguliert	+	(2 Tage)	typisch	+	
rot, opaleszent, nach 48 St. koaguliert	+	(2 Tage)	typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	negativ		etwas plump u. kurz, an den Enden abgerundet, Körnelung u. Lagerung typisch	+	Derselbe Fall wie R 785, 4 Tge. später
rot, nach 48 St. koaguliert	negativ		kurze, etwas dicke Stäbchen mit spärlicher Körnchenbildung. Lagerung wenig typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	negativ		sehr kurze Stäbchen, selten Körnchen	+	
rot, keine Koagulation	negativ		sehr lang, mit sehr starker Körnelung (bis zu 6 Körnchen in einem Bacillus); Lagerung typisch	+	
rot, koaguliert	negativ		sehr lang, m. massenhaften Körnchen, teilweise Fäden; Lagerung atypisch	+	

Bezeichnung, Herkunft und ursprüngliche Diagnose nach d. Schmierplatte	Wachstum				
	Loeffler- Serum	Tellurserum	Agar	Trauben- zuckeragar in hoher Schicht	Bouillon; Säure- bildung nach 48 Stunden
R 784 c	cremefarben	tiefschwarz	sehr zart	Wachstum bis in die Tiefe	Bodensatz, Flüs- sigkeit klar, — 1 Tr.
Wai 3060 <sub>1</sub> , Nase u. Rachen (Säug- ling), D.-B. +	gelblich-weiß	graubraun	zart, grau- weiß	dgl.	schwach diffus getrübt, 4 Tr.
Wai 3060 <sub>2</sub>	cremefarben	graue und schwarze Kolonieen	sehr zart	dgl.	diffus getrübt, 5 Tr.
Wai 51 a, Ra- chen (Säugling), D.-B. + (aty- pisch)	gelblich-weiß	tiefschwarz	sehr zart	dgl.	körniger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 4 Tr.
Wai 51 b	gelblich-weiß	tiefschwarz	zart, grau- weiß	dgl.	wie a, 5 Tr.
Wai 51 c	cremefarben	tiefschwarze u. graue Ko- lonieen	zart, grau- weiß	dgl.	wie a, 5 Tr.
Wai 51 d	grauweiß	tiefschwarze u. graue Ko- lonieen	zart, grau- weiß	dgl.	flockiger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 4 Tr.
R 781 a, Rachen (Säugling), D.-B. —	grauweiß	braun- schwarz	zart, grau- weiß	dgl.	diffus getrübt, 2 Tr.
R 781 b	cremefarben	schwarz	üppig, grau- weiß	dgl.	flockiger Boden- satz, Flüssig- keit klar, 1 Tr.
R 2495 <sub>1</sub> , Nasen- Rachen (Säug- ling), D.-B. +	gelblich-weiß	graue, verein- zelt schwar- ze Kolonieen	sehr zart	dgl.	diffus getrübt, 6 Tr.
R 2495 <sub>2</sub>	gelblich-weiß	graue, verein- zelt schwar- ze Kolonieen	sehr zart	dgl.	diffus getrübt, 6 Tr.
R 2495 <sub>3</sub>	grauweiß	graue und schwarze Kolonieen	sehr zart	dgl.	diffus getrübt, 1 Tr.

auf	Pathogenität	Mikroskopisches Bild		Bemerkungen
		Neisser-Färbung	Gram-Färbung	
Thielschem Nährboden				
rot, opaleszent, nach 48 St. koaguliert	negativ	sehr lang, sonst typisch nach Körnchenbildung und Lagerung	+	
unverändert, nach 48 St. rot; keine Koagulation	+ (2 Tage)	typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (7 Tage)	etwas lang, sonst typisch	+	
unverändert, rot n. 48 St., koaguliert nach 72 St.	+ (2 Tage)	ziemlich lange, sehr stark gekörnte Bacillen, vielfach Fäden, dazwischen typisch gelagerte	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	wie a	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	wie a	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	wie a	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	mit der gewöhnlich. Prüfungsdosis Tod innerhalb von 8 Tag. ohne typischen Befund; nach Injektion einer ganzen Serumkultur: + (3 Tage) mit Antitoxin behandeltes Tier überlebt	sehr lang, sonst typisch	+	
unverändert	negativ	sehr lang, sonst typisch	+	
gerötet, nach 48 St. opaleszent. Keine Koagulation	+ (2 Tage)	typische Lagerung; neben typischen Bacillen viele ohne Körnchen, reichlich Dalesche Typen	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	wie 1	+	
rot, opaleszent, nach 48 St. koaguliert	negativ mit der gewöhnl. Prüfungsdosis nach Injektion einer ganzen Serumkultur: mit + (2 Tage) Antitoxin behandeltes Tier überlebt	typisch	+	



Bezeichnung, Herkunft und ursprüngliche Diagnose nach d. Schmierplatte	Wachstum				
	Loeffler- Serum	Tellurserum	Agar	Trauben- zuckeragar in hoher Schicht	Bouillon; Säure- bildung nach 48 Stunden
IS 463 (Rachen, Schulkind), D.- B. —	grauweiß	grauschwarz	zart grauweiß	Wachstum bis in die Tiefe	diffus getrübt 1 Tr.
Wai 3066 <sub>1</sub> (Nase, Säug- ling), D.-B. +	cremefarben	tiefschwarz	zart grauweiß	dgl.	körn. Bodensatz, Flüssigkeit klar 6 Tr.
Wai 3066 <sub>2</sub>	cremefarben	tiefschwarz	sehr zart	dgl.	wie 1 6 Tr.
R 804 b (Nase Säugling), D.-B. s. Bemerkungen	cremefarben	graue verein- zelt schwar- ze Kolonien	reichlich grauweiß	dgl.	flockiger Boden- satz, Flüssigkeit klar 6 Tr.
Wai 2972 <sub>1</sub> (Nase, Säug- ling), D.-B. +	cremefarben	tiefschwarze und graue Kolonien	zart	dgl.	körn. Bodensatz, Flüssigkeit klar 4 Tr.
Wai 2972 <sub>2</sub>	grauweiß	tiefschwarz	zart	dgl.	körn. Bodensatz, Flüssigkeit klar 6 Tr.
Wai 2987 <sub>1</sub> (Nase, Säug- ling), D.-B. +	grauweiß	schwarz	zart grauweiß	dgl.	körn. Bodensatz, Flüssigkeit leicht getrübt 13 Tr.
Wai 2987 <sub>2</sub>	grauweiß	graue und schwarze Kolonien	zart	dgl.	diffus getrübt 5 Tr.
Wai 2987 <sub>3</sub>	grauweiß	überwiegend graue verein- zelt schwar- ze Kolonien	zart	dgl.	flockiger Boden- satz, Flüssig- keit klar 4 Tr.
Wai 3192 <sub>1</sub> (Nase, Säug- ling), D.-B. + (nicht ganz ty- pisch)	gelblich-weiß	tiefschwarz	zart	dgl.	schwache diffuse Trübung 7 Tr.
Wai 3192 <sub>2</sub>	weißlich	schwarze und hellgraue Kolonien	zart grauweiß	dgl.	diffus getrübt 6 Tr.
Wai 3192 <sub>3</sub>	grauweiß	grau	sehr zart	dgl.	diffus getrübt 5 Tr.
Wai 3144 (Na- sen-Rachen, Säugling), D.-B. +	grauweiß	grau, verein- zelt schwar- ze Kolonien	zart, etwas trocken	dgl.	körn. Bodensatz, Flüssigkeit klar 8 Tr.
Wai 3206 (Na- sen-Rachen, Säugling), D.-B. + (nicht ganz typisch)	gelbweiß	schwarze und grauschwar- ze Kolonien	zart	dgl.	körn. Bodensatz, Flüssigkeit klar 12 Tr.

auf	Pathogenität	Mikroskopisches Bild		Bemerkungen
		Neisser-Färbung	Gram-Färbung	
Thielschem Nährboden				
blau	negativ	sehr kurze Stäbchen; nur ganz vereinzelte Polkörnchen	+	Originalplatte: diphtheroide Stäbchen in der Ueberzahl, dazwischen vereinzelte Stäbchen, die wie D.-B. aussehen. Aus Vorsicht D.-B. + geantwortet
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (24 St.)	typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	etwas lang, sonst typisch	+	
rot, nach 48 St. opalescent. Keine Koagulation	negativ, i	starre, an den Enden etwas abgerundete, leicht gebrauchte Bacillen, mäßig viel Körnchen. Lagerung typisch		
rot opalescent, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+ (3 Tage)	sehr stark gekörnt, sonst typisch	+	
rot koaguliert	negativ, i	sehr lange Bacillen, sonst typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	negativ, i	typisch	+	
Spur gerötet, keine Koagulation	negativ, i	typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (24 St.)	typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	+ (3 Tage)	typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (6 Tage)	typisch	+	
rot ohne Koagulation	negativ, i	typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	Bacillen lang und ziemlich breit, spärlich Polkörnchen, Lagerung typisch	+	

Bezeichnung Herkunft und ursprüngliche Diagnose nach d. Schmierplatte	Wachstum				
	Loeffler- Serum	Tellurserum	Agar	Trauben- zuckeragar in hoher Schicht	Bouillon; Säure- bildung nach 48 Stunden
Wai 3336 (Nase, Säugling), D.-B. +	cremefarben	schwarz	zart grauweiß	Wachstum bis in die Tiefe	diffus getrübt 0 Tr.
Wai 3337 (Ra- chen, Säugling), D.-B. s. Bemerkungen	cremefarben	schwarz	zart grauweiß	dgl.	Bodensatz, Flüssigkeit klar 0 Tr.
R 2577 <sub>1</sub> (Nasen- Rachen, Säugling), D.-B. + (nicht ganz typisch)	cremefarben	schwarze und graue Kolonien	reichlich grauweiß	dgl.	körn. Bodensatz, Flüssigkeit klar 6 Tr.
R 2577 <sub>2</sub>	elfenbeinfarben	schwarz	reichlich grauweiß	dgl.	Bodensatz, Flüssigkeit klar 5 Tr.
R 2577 <sub>3</sub>	elfenbeinfarben	tiefschwarz	sehr zart	dgl.	flockiger Bodensatz, Flüssigkeit klar 7 Tr.
Wai 3272, (Nasen-Rachen, Säugling), D.-B. +	grauweiß	tiefschwarz	zart grauweiß	dgl.	körn. Bodensatz, Flüssigkeit klar 6 Tr.
Wai 3272 <sub>2</sub>	elfenbeinfarben	grauschwarz	reichlich grauweiß	dgl.	wie 1 5 Tr.
Wai 3436 <sub>1</sub> Nase, — Säugling) D.-B. +	üppig grauweiß	tiefschwarz	zart grauweiß	dgl.	Bodensatz, Flüssigkeit klar 7 Tr.
Wai 3436 <sub>2</sub>	üppig grauweiß	tiefschwarz	zart grauweiß	dgl.	körn. Bodensatz, Flüssigkeit klar 6 Tr.
Wai 3436 <sub>3</sub>	üppig grauweiß	tiefschwarz	zart grauweiß	dgl.	wie 1 6 Tr.

Ulcus ventriculi oder doch Hämorrhagieen in der Magenwand nachweisbar<sup>1)</sup>.

Führte diese Methode nicht zu einem positiven Resultat, so wurde der Versuch in gleicher Weise wiederholt. War er wiederum negativ, so wurde eine Kultur auf erstarrtem Loeffler-Serum angelegt, nach 24 Stunden in toto mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und einem etwa 300 g schweren Tiere eingespritzt. Ein zweites Meerschweinchen wurde in der gleichen Weise behandelt, erhielt jedoch mit der Kultur gleichzeitig 0,3 ccm Diphtherieheilserum (600fach). Führte auch diese Methode nicht zum Erfolg, so wurde Bouillon 10 Tage mit Kultur bebrütet (zwecks Toxinbildung) und dann injiziert, 0,5 ccm pro

1) Möglicherweise hängt das Ulcus ventriculi, auf das Neisser neuerdings wieder hingewiesen hat, mit der Störung der Nebennierentätigkeit zusammen. Darauf weisen Versuche von Finzi hin, der durch experimentelle Entfernung der Nebennieren Ekchymosen und Geschwürsbildungen auf der Magenschleimhaut entstehen sah. (Pathologica. Vol. 6. p. 583.)

auf	Pathogenität	Mikroskopisches Bild		Bemerkungen
		Neisser-Färbung	Gram-Färbung	
rot ohne Koagulation	+ (24 St.)	typisch mit reichlich Daleschen Formen	+	3336 und 3337 stammen von dem gleichen Kinde. Während die Originalplatte bei 3336 keinen Zweifel an der Diagnose D.-B. + ließ, war die Platte von 3337 recht atypisch, so daß nur mit Rücksicht auf 3336 die Diagnose D.-B. + gestellt wurde.
unverändert, nach 48 St. rot ohne Koagulation	+ (4 Tage)	sehr kleine, stark gekörnte Formen, Lagerung wenig typisch	+	
rot ohne Koagulation	+ (2 Tage)	starre, an den Enden leicht gerundete, sehr distinkte Bakterien, mitunter in Fäden; mäßig viel Körnchen. Lagerung typisch	+	
rot ohne Koagulation	+ (3 Tage)	wie 1	+	
unverändert, nach 48 St. rot ohne Koagulation	+ (2 Tage)	wie 1, dazwischen reichlich ganz typische Stäbchen	+	
rot opaleszent, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
gerötet, nach 48 St. koaguliert	negativ, i	typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	
rot, nach 48 St. koaguliert	+ (2 Tage)	typisch	+	

100 g Tier. Wo in den Tabellen die Pathogenität als negativ bezeichnet ist, haben alle drei Prüfungsarten versagt; ein „i“ in der Tabelle bedeutet Infiltrat an der Impfstelle, das sich in keinem Falle durch Antitoxingaben verhindern ließ und daher wohl eine unspezifische, örtliche Reaktion darstellt. Die Angabe + mit Anzahl der Tage in Klammern ohne sonstigen Zusatz bedeutet den Tod des Versuchstieres nach so und so viel Tagen mit typischem Befund nach Behandlung mit 24-stündiger Bouillonkultur.

Schließlich ist in der Tabelle noch der ursprüngliche, diagnostische Befund aufgeführt, wie er auf der Originalserumplatte erhoben wurde. Das sollte uns u. a. einen Anhalt geben, festzustellen, ob in der Tat die Diagnose „Diphtheriebacillus“ nur auf Grund der mikroskopischen Kulturkontrolle dem geübten Untersucher bei zweifelhaften Fällen ernstliche Schwierigkeiten bereiten kann.

Bei der Besprechung der vorstehenden Tabellen und der Bewertung ihrer Ergebnisse wollen wir uns an das Schema halten, das M. Neisser

auf der 7. Tagung der mikrobiologischen Vereinigung 1913 entwickelt hat. Wir verhehlen uns nicht, daß die schematisierende Einteilung Neissers, wie jedes künstliche System, Willkürlichkeiten einschließt. Gleichwohl erleichtert sie die Deutung.

Neisser nennt einen Bacillus „typischen Diphtheriebacillus“, wenn er in einer Reihe morphologischer und kultureller Eigenschaften, die sich im wesentlichen mit den Prüfungen unserer Tabellen decken, die bekannten, konstanten Eigenschaften zeigt. Die Virulenz gehört nicht zu diesen erforderlichen Eigenschaften, so daß es nach Neisser typische virulente und typische avirulente Diphtheriebacillen gibt. Zeigt ein Bacillus Abweichungen wesentlicher Art in einer der angewandten Untersuchungsmethoden (Form oder Säurebildung u. a.), so handelt es sich um einen atypischen Bacillus; auch hier kommen wieder atypische virulente und atypische avirulente Diphtheriebacillen vor. Weicht der fragliche Bacillus jedoch in mehreren Merkmalen von dem Ueblichen ab, so ist es kein Diphtheriebacillus mehr, sondern ein Bakterium aus der Gruppe der diphtheroiden Bacillen, die mit Diphtherie, nach Neisser, nichts zu tun haben.

Wendet man diese Nomenklatur auf unsere Reinkulturen an, so ergibt sich folgendes Bild:

Von den 21 Kulturen, die aus frischen Krankheitsfällen gezüchtet wurden, erwiesen sich 19 als typische virulente Diphtheriebacillen, 2 als atypische virulente Formen. Diese beiden Stämme, die in je einem Merkmal wesentlich abweichen, haben gleichzeitig gezüchtete Schwesterstämme mit allen charakteristischen Merkmalen des typischen Diphtheriebacillus.

Der eine atypische Stamm (Wai 3420<sub>3</sub>) zeigt mangelndes Säurebildungsvermögen, der andere (A 777a) weicht morphologisch so sehr von den gewöhnlichen Formen ab, daß man, ohne den positiven Tierversuch, Bedenken tragen könnte, ihn als Diphtheriebacillus anzusprechen.

Im übrigen zeigt auch das Verhalten der typischen Stämme gewisse physiologische Schwankungen, die sich im Wachstum auf Loeffler-Serum (Intensität und Färbung), auf Tellurserum (von Tiefschwarz bis zum Grau), in der Bouillon (Säurebildung zwischen 3 und 10 Tropfen schwankend) äußern. Geringer sind die Differenzen auf Agar und im Thielschen Nährboden, sie fehlen im Wachstum in hoher Traubenzuckeragarschicht. Auch das mikroskopische Bild (Neisser-Präparat) zeigt leichte Verschiedenheiten, ohne jedoch die Diagnose in Zweifel zu stellen, während das Gram-Präparat etwaige Unterschiede fast völlig verwischt.

Die 3 Ozaenakulturen müssen als atypische avirulente Diphtheriebacillen betrachtet werden, zweien fehlt die Säureproduktionsfähigkeit in Bouillon, einer weicht erheblich im mikroskopischen Bilde ab.

Die 19 von Rekonvaleszenten etc. gezüchteten Kulturen zeigten folgendes Verhalten: 12 erwiesen sich als typische virulente Formen, 7 als typische avirulente Diphtheriebacillen. Diese 7 Kulturen stammen von demselben Patienten, einem Mädchen, das nach einer klinisch harmlosen Angina monatelang noch Bacillen beherbergte. Da das mikroskopische Bild nicht selten bei der diagnostischen Prüfung abweichende Formen aufwies, wurde zu verschiedenen Zeiten reingezüchtet und der Befund avirulenter Bacillen erhoben. Die Neigung zur mor-

phologischen Variabilität, die schon bei den frisch gezüchteten Kulturen auffiel, zeigt sich auch im Verlaufe der weiteren künstlichen Züchtung (s. Anmerkung bei W 293).

Anmerkung: Das Kind stammte aus einer Schulklasse, die gerade durch einen Bacillenträger der Herd einer Diphtherieepidemie geworden war. Als ich dem Schularzt den Befund der Avirulenz mitteilte und vorschlug, das Kind unter gewissen Vorsichtsmaßregeln wieder am Unterricht teilnehmen zu lassen, lehnten Schularzt und Rektor, die die Gefahr der Bacillenträger aus nächster Nähe kennen gelernt hatten, beide den Kompromiß ab und warteten bis zur völligen Bacillenfreiheit des Kindes, die glücklicherweise bald eintrat.

43 Kulturen stammten von gesunden Kindern:

1) Typische virulente Bacillen	waren	25
2) Atypische virulente	„	4
3) Typische avirulente	„	5
4) Atypische avirulente	„	2
6) Diphtheroide	„	7

Zur ersten Gruppe dieser 43 Kulturen ist nichts Besonderes hinzuzufügen. Schwankungen wurden etwa in demselben Ausmaße festgestellt, wie bei den aus frischen Fällen isolierten Stämmen.

Gruppe 2 umfaßt 4 Fälle: 2 hochvirulente Stämme aus Nase und Rachen desselben Patienten (s. Anmerkung bei Wai 3336 u. 3337), die mangelnde Säurebildung in Bouillon zeigten, und zwei schwach virulente Kulturen R 781a und R 2495<sub>8</sub>. Beide Kulturen töteten Meerschweinchen erst in massiven Dosen unter dem typischen Bilde, beide zeigten ein wenn auch nicht aufgehobenes, so doch sehr geschwächtes Säurebildungsvermögen. Von beiden sind Schwesterstämme geprüft worden. R 2495<sub>1</sub> und <sub>8</sub> sind typische virulente Bacillen, R 781b ist ein diphtheroider Stamm. Also atypische, schwach virulente Bacillen einmal neben echten Diphtheriebacillen, das andere Mal neben kulturell differenzierbaren Diphtheroiden.

Gruppe 3: 5 typische avirulente Kulturen, von 3 Patienten stammend, 3 aus der Nase, 2 aus dem Nasen-Rachensekret. Wai 2087<sub>1-3</sub> sind Schwesterstämme, die außer der fehlenden Virulenz alle Kennzeichen des Diphtheriebacillus aufweisen, Wai 3144 ist als einziger aus dem betr. Fall gezüchtet, Wai 3272<sub>2</sub>, ebenfalls wie die vorhergehenden mit typischem kulturellen Verhalten, hat als Schwesterstamm einen typischen virulenten Bacillus (Wai 3272<sub>1</sub>). Eine Warnung, nicht zu schnell die Diagnose „avirulenter Fall“ zu stellen, da eben, wie schon Roux betont hat, virulente Formen bei demselben Patienten neben avirulenten vorkommen können. Der Nachweis avirulenter Bacillen schließt die Anwesenheit virulenter Diphtheriekeime nicht aus.

Gruppe 4 umfaßt die beiden Fälle R 900 und R 804b. Hier stößt die Diagnose schon auf erheblichere Schwierigkeiten. Es hängt fast von der individuellen Neigung ab, ob man R 900, einen avirulenten Stamm, der morphologisch deutlich abweicht und über Säurebildungsvermögen nicht verfügt, noch als avirulenten, atypischen Stamm oder schon als diphtheroiden bezeichnen will. Die Tatsache, daß er von einem Patienten stammt, der 4 Tage vorher typische Diphtheriebacillen geliefert hatte, mag die Entscheidung etwas beeinflußt haben. R 804b weicht wesentlich nur in seiner Morphologie ab, so daß die Entscheidung hier weniger schwierig war.

Die Gruppe der Diphtheroiden mit ihren 7 Vertretern ließ sich mit Leichtigkeit von den Diphtheriebacillen, den virulenten wie den avirulenten, abgrenzen. 4 zeigten schon durch ihr üppiges Wachstum auf Agar makroskopische Differenzen, zu denen sich morphologische und biologische Abweichungen addierten (R 791a und b, R 784a, R 781b). Von den drei anderen war I S 463 mikroskopisch mit Diphtheriebacillen überhaupt nicht zu verwechseln, R 784b zeigt gleichfalls ein vollkommen abweichendes Bild im gefärbten Präparat nach Neisser, während R 784c zwar nach Lagerung und Körnchenbildung Ähnlichkeiten zeigte, durch die große Länge der Bacillen aber und durch die Alkaliproduktion in Bouillon differierte. Beachtenswert ist, daß die beiden letztgenannten Stämme einen Schwesterstamm R 784a besitzen, der zwar auch diphtheroid ist, sich aber durch das Wachstum auf Agar von ihnen deutlich unterscheidet.

Ueerblicken wir noch einmal das Gesamtergebnis dieser Untersuchungen, so zeigt sich, daß die überwiegende Mehrzahl aller Stämme ohne jede Schwierigkeit als echte Diphtheriebacillen zu identifizieren sind. Weder die virulenten Formen noch die typischen avirulenten lassen irgendeinen Zweifel an ihrer Art aufkommen. Auf der anderen Seite stehen die ebenfalls gut abgrenzbaren diphtheroiden. Schwierigkeiten machen nur die atypischen avirulenten Formen, die scheinbar in der Mitte zwischen beiden Extremen stehen und möglicherweise eine Uebergangsform darstellen. Diese Bakterientypen sind jedoch in unserem Material recht selten; bei Ozäna scheinen sie regelmäßiger vorzukommen, sonst haben wir sie unter 83 Kulturen nur zweimal angetroffen, beidemale bei gesunden Säuglingen aus infiziertem Milieu; der eine war kurz vorher sicherer Diphtheriebacillenträger gewesen.

Einen sicheren Schluß möchten wir aus unseren Resultaten nicht ziehen, weder im Rouxschen Sinne, noch in dem von Loeffler, so reichhaltig das dargebotene Material ist, für die Entscheidung der eingangs erörterten Fragen genügt es noch nicht. Dazu sind möglichst zahlreiche weitere Reinzüchtungen von möglichst verschiedenartigem Material erforderlich. Neben Ozänapatienten, die wohl eine ganz spezielle Rolle spielen, kommen hauptsächlich gesunde Bacillenträger in Betracht; namentlich die Nasen junger Kinder, in denen sich auch die klinische Diphtherie vorwiegend abspielt, bergen geeignetes Material.

Sicher erscheint nur das Eine, daß bei gesunden Kindern die Schwankungen in der Biologie der Bacillen größer sind als bei Erkrankten und Rekonvaleszenten. Es hängt in gewissem Sinne von der persönlichen Voreingenommenheit ab, wie man die Resultate hier deuten will. Anhänger Rouxs werden nicht zögern, daraus zu folgern, daß bei gesunden Keimträgern alle Uergänge vom echten, virulenten Diphtheriebacillus bis zum saprophytischen diphtheroiden Keime vorkommen. Man kann aber auch anders deuten: diphtheroide kommen sehr häufig bei Gesunden vor, warum nicht auch im infizierten Milieu? — Und schaltet man diese Stämme aus, so finden sich in unserem Material unter 36 Kulturen gesunder Bacillenträger 34, die als Diphtheriebacillen unschwer zu diagnostizieren sind, nur 2 atypische, avirulente Formen weichen ab. Die Schlußfolgerung eines Ueberganges vom virulenten zum avirulenten, abweichenden Bacterium ist daraus also nicht ohne weiteres zu ziehen.

Zum Schluß noch die Kontrolle unserer Originaldiagnosen in der Mischplatte, kontrolliert durch die Reinkultur: eine falsche Diagnose haben wir unter 42 Fällen 1mal gestellt (R 781); wir diagnostizierten



„keine Diphtheriebacillen“ und fanden in der Reinkultur einen diphtheroiden und einen atypischen, schwach virulenten Diphtheriebacillus. Zweimal war die Originaldiagnose zweifelhaft, wurde jedoch als positiv schließlich gestellt; in beiden Fällen hat die Reinzüchtung sie bestätigt. Alle diphtheroiden sind stets schon in der Originalplatte erkannt worden, so daß unsere Erfahrungen sich mit denen Neissers decken: es kommt vor, daß wir einen Diphtheriebacillus nicht erkennen, aber es ist bisher nicht vorgekommen, daß wir einem Bakterium fälschlich die Diagnose Diphtheriebacillus beigelegt haben. Die Schwierigkeit der bakterioskopischen Diphtheriediagnose scheint daher für den geübten Untersucher nur gering zu sein. Daß aber Uebung und große Erfahrung erforderlich ist, müssen wir Neisser durchaus bestätigen.

*Nachdruck verboten.*

## **Sarcina tetragena als Erreger einer Pneumonie.**

[Aus dem pathologisch-bakteriologischen Institute der mährischen Landeskrankenanstalt in Brünn (Vorstand: Prof. Dr. C. Sternberg).]

Von Dr. Richard Pollak,

k. u. k. Regimentsarzt, kommandiert zum Institute.

Mit 3 Figuren.

In der Literatur liegen nur spärliche Mitteilungen über pathogene Sarcinen vor, ja in den meisten Lehrbüchern werden dieselben als nicht pathogene Bakterien bezeichnet. Dabei werden aber die Sarcinen von dem *Micrococcus tetragenus* scharf getrennt. Ueber die Pathogenität des letzteren ist wiederholt berichtet worden, vgl. die Mitteilungen von Kaspar und Kern (1), Bauer (2), Burckhardt (3), in denen sich ausführliche Literaturnachweise finden. Eine der letzten diesbezüglichen Publikationen stammt von Stroebe (4). Ueber eine pathogene Sarcine berichteten im Jahre 1899 Löwenberg (5) und 1901 Schläfrig (6); in diesen beiden Fällen entstammten die Sarcinen dem Sekrete einer Ozaena. Im Jahre 1909 beschrieb Sauerbeck (7) ein aus Sputum gewonnenes, dieser Kokkengruppe zugehöriges Bakterium, welchem er den Namen „*Sarcina mucosa*“ beilegte und das er als „nova species“ bezeichnete. Seither berichteten Burckhardt [1912] (3) und Bauer [1913] (2) über Keime, welche sie zwar mit der Sauerbeckschen Sarcine identifizieren, jedoch als *Sarcina tetragena* bezeichnen, letzterer bei Trennung derselben vom *Micrococcus tetragenus*. Burckhardt züchtete seine Sarcine aus einer Phlegmone der Scapular- und Pectoralgegend, sowie aus dem Herzblute dieses Falles, Bauer aus der Punktionsflüssigkeit einer Meningo-Encephalitis und -Myelitis. In 2 Fällen gewannen R. Müller und Willich (8) nicht-schleimige Sarcinen aus der Harnblase und nehmen an, daß dieselben einen Reiz auf die Blase ausgeübt haben dürften.

Einen weiteren Beitrag zur Pathogenität dieser Bakteriengruppe soll die folgende Mitteilung bilden.

Am 17. Okt. 1912 gelangte die Leiche einer 67 Jahre alten Wäscherin in der Prosektur der mährischen Landeskrankenanstalt in Brünn zur Obduktion (Pr.-No. 1084).

Die Sektion (Prof. C. Sternberg) ergab folgende Diagnose:

Mesaortitis productiva. Concretio cordis cum pericardio. Pneumonia lobi superioris. Cicatrices tbc. apices pulmonis utriusque. Tbc. miliaris subacuta peritonei cum

10\*



concretionem intestini. Ulcus parietis anterioris oesophagi e perforatione glandulae lymphaticae anthracoticae et caseosae, sequente haemorrhagia in tubum gastrointestinalem. Thrombosis venae femoralis dextrae. Decubitus in regione trochanteris utriusque et ossis sacri (Wassermannsche Reaktion an der Leiche: +).

Der linke Oberlappen bot das Bild einer croupösen Pneumonie dar, jedoch war das Gewebe schlaffer als gewöhnlich und ließ reichlich fadenziehende, schleimige, etwas hämorrhagische Flüssigkeit abstreifen, so daß an eine durch den *Bacillus Friedländer* hervorgerufene Entzündung gedacht wurde.

In den unmittelbar nach der Sektion angefertigten Ausstrichpräparaten vom linken Oberlappen fanden sich nun reichlich Eiterzellen und zwischen denselben in sehr beträchtlicher Menge große, nach Gram dunkelviolet gefärbte Kokken, die stets zu viert beisammen liegen und regelmäßige Tetraden formen. Sehr häufig bilden mehrere solche Tetraden größere Pakete, die ganz Sarcinen entsprechen. In einzelnen Tetraden scheinen die Kokken größer, in anderen kleiner zu sein, doch zeigen dieselben

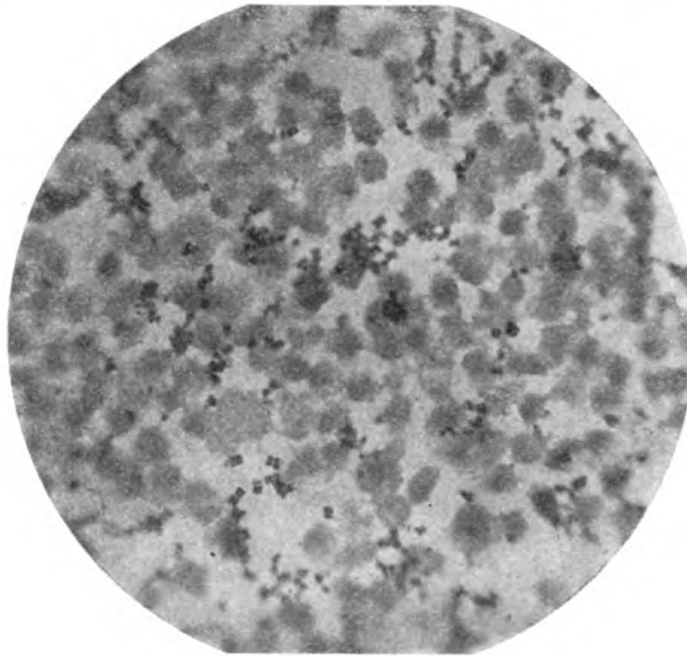


Fig. 1.

innerhalb einer Tetrade stets die gleiche Größe. Neben diesen Kokken finden sich in geringer Zahl schlanke, kurze, gramnegative Bacillen (Fig. 1).

Zur Kultur wurde gewöhnlicher Agar und Blutagar (nach Voges) verwendet. Auf den angelegten Platten wuchsen nach 20 Stunden zahlreiche Kolonien einer Art, welche kreisrund oder oval, scharf begrenzt, kuppelförmig erhaben, grau, schleimig, beim Abheben mit der Oese fadenziehend waren und einen Durchmesser von 1—3 mm hatten. Im Mikroskop erscheinen sie gleichfalls scharf begrenzt, sehr dunkel und grob gekörnt. Die Kolonien bestanden bei mikroskopischer Untersuchung aus grampositiven, großen Kokken, die in Tetraden und Paketen angeordnet waren. Zwischen den einzelnen Kockengruppen ziehen mit Fuchsin blaßrot gefärbte Fäden. Bei Kapselfärbung (nach John e) ist eine deutliche, einzelne Tetraden oder Pakete oder auch gleichzeitig mehrere solche Pakete umgebende, blaßviolett gefärbte Kapsel darstellbar. Im hängenden Tropfen ist keine Eigenbewegung sichtbar.

Die pneumonisch veränderte Lunge zeigt bei der histologischen Untersuchung allenthalben die gleiche Veränderung. Die Alveolen haben eine wechselnde Weite, vielfach konfluieren mehrere benachbarte Alveolen zu größeren Hohlräumen. Dieselben sind erfüllt von meist locker, stellenweise aber dicht aneinander gelagerten polynukleären Leukocyten, zwischen welchen sich vereinzelt desquamiierte Alveolarepithelien finden. Zwischen den Leukocyten liegen in sehr großer Menge schon bei Hämalaun-Eosinfärbung sichtbare (blaßgrau blau gefärbte) Kokken meist in Tetradenanordnung. Bei Weigertscher Fibrinfärbung sieht man in manchen Alveolen, namentlich peripher, ein lockeres Fibrinnetz, während große Gruppen von Alveolen frei von Fibrin sind. Bei dieser Färbung, insbesondere aber bei der Gramschen Färbung (Fig. 2), sieht man innerhalb der Alveolen Unmassen eben jener zu Tetraden, vereinzelt aber auch zu zweit gelagerten Kokken, die intensiv blauviolett gefärbt sind.

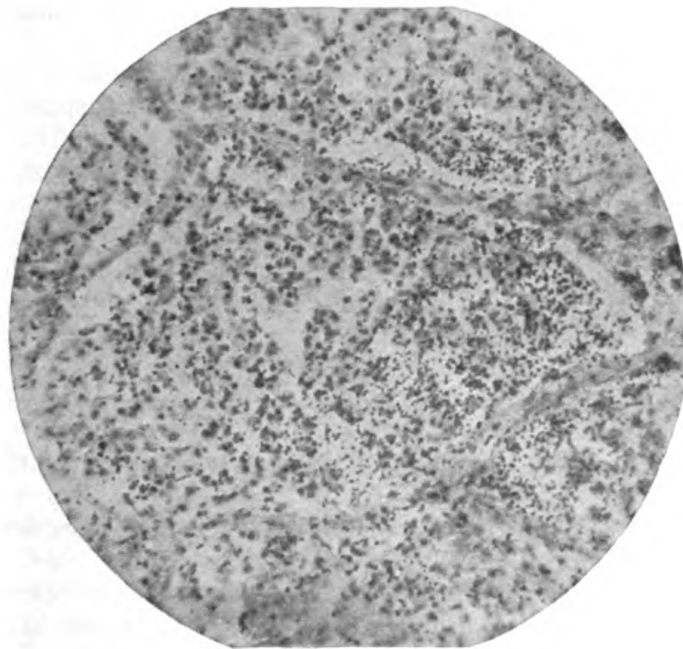


Fig. 2.

In jenen Alveolen, die reichlich Leukocyten enthalten, liegen die Kokken, die in Form, Größe und Lagerung bald mehr dem *Micrococcus tetragenus*, bald mehr einer *Sarcine* zu entsprechen scheinen, zwischen den Leukocyten gleichmäßig verstreut, während in anderen Alveolen, die nur weniger Zellen enthalten, der größte Teil ihres Lumens dicht mit diesen Kokken erfüllt ist. Bei Elasticafärbung zeigt sich namentlich in den verdünnten Alveolarseptis und dort, wo mehrere Alveolen untereinander konfluieren, ein Schwund der elastischen Fasern. Färbung mit Methylgrünpyronin ergibt keinen wesentlichen Befund; die Kokken sind hierbei rot gefärbt. Die in den ersten Deckglasausstrichen gefundenen, spärlichen gramnegativen Stäbchen sind in keinem der histologischen Präparate zu sehen.

Auf Grund des bakteriologischen und histologischen Befundes müssen wir mithin den gefundenen Coccus als den Erreger der Pneumonie betrachten. Derselbe zeigte folgendes kulturelles Verhalten:

Seine Eigenschaften auf der Agarplatte wurden bereits beschrieben. Aeltere Kolonien erreichen auf Agar Linsengröße oder es entsteht durch Konfluenz ein dichter, schleimiger Rasen. Bei einer Temperatur von 17° C ist das Wachstum langsamer, die Kolonien zeigen statt der matt-grauen Farbe ein weißes, porzellanartiges Aussehen und sind weniger schleimig. Werden jedoch solche Kolonien abgeimpft und bei Bruttemperatur fortgezüchtet, so entstehen wieder die erst beschriebenen Kolonien. In Deckglaspräparaten unterscheiden sich beide Formen überdies dadurch, daß die grauen Kolonien aus größeren Kokken mit deutlich darstellbarer Kapsel, die weißen aus kleineren, kapsellosen Kokken bestehen. Die Anordnung in Tetraden und Paketen ist beiden gemeinsam.

**Zuckeragar:** Wie auf Agar; keine Gasbildung.

**Anaërob:** Wachstum langsamer und spärlicher.

**Schräger Agar:** Grauer, dicker, schleimiger Rasen bzw. bei niedriger Temperatur weißer, schleimiger Belag. Kondenswasser trüb und schleimig.

**Agarstich:** Wachstum längs des Stichkanales und an der Oberfläche. Der Rasen wird nach längerem Aufbewahren bei Zimmertemperatur weiß.

**Gelatineplatte:** Scharf begrenzte, dunkle, grobgekörnte Kolonien. Gelatine wird nicht verflüssigt.

**Gelatinestich:** Anfangs einzelne Körnchen längs des Stichkanals, später zusammenhängendes Wachstum längs des ganzen Stichkanals mit kurzen, seitlichen Ausläufern. An der Oberfläche entwickelt sich eine flache, weißglänzende Scheibe mit konzentrischen Ringen und radiärer Streifung am Rande. Auch nach Wochen keine Verflüssigung.

**Conradi-Drigalski:** Weiße, glänzende Kolonien, ohne Entfärbung oder Verfärbung des Nährbodens.

**Padlewski:** Weiße, glänzende Kolonien, ohne Entfärbung oder Verfärbung des Nährbodens.

**Kindborg-Weisskopf:** Weiße, glänzende Kolonien, ohne Entfärbung oder Verfärbung des Nährbodens.

**Kartoffel:** Nach 24 Stunden schleimiger, porzellanweißer Rasen.

**Bouillon:** Vorerst diffus trüb; vom 2. Tage ab bildet sich ein dicker, schleimiger Bodensatz, über welchem die Flüssigkeit nur eine minimale Trübung aufweist, jedoch nicht vollkommen klar wird. Nach 8 Tagen zeigt die Bouillon eine schwach saure Reaktion. Keine Indolbildung.

**Zuckerbouillon:** Wie Bouillon; keine Gasbildung.

**Heudekockt mit oder ohne Traubenzuckerzusatz:** Wie Bouillon; bei mikroskopischer Besichtigung zeigen die Kokken deutlich Tetraden und Pakete.

**Lackmusmolke:** Wie Bouillon, ohne Veränderung der Farbe des Nährmediums.

**Mannit:** Wie Bouillon, ohne Veränderung der Farbe des Nährmediums.

**Milch:** Keine Gerinnung oder Aufhellung; ihre Reaktion wird schwach sauer.

Zur Pathogenitätsprüfung wurden weißen Mäusen verschiedene Mengen 24-stündiger Kulturen intraperitoneal, Meerschweinchen subkutan und intraperitoneal, Kaninchen intraperitoneal und intravenös injiziert. Sämtliche Mäuse und Meerschweinchen gingen zugrunde, Kaninchen

blieben gesund. Bei den Mäusen trat nach Einspritzung von  $\frac{1}{10}$  Oese in 18—20 Stunden, bei Meerschweinchen bei intraperitonealer Einverleibung einer Agarkultur in ca. 24 Stunden der Tod ein. Prüfungen mit kleineren Mengen wurden nicht vorgenommen. Bei der Sektion der Tiere fand sich ein beträchtlicher Milztumor und in der Bauchhöhle ein viscoses, fadenziehendes Exsudat. In demselben finden sich Eiterzellen und ebenso wie im Herzblut und Milzausstrich massenhaft Kokken, die zu zweien oder vierten gelagert sind, etwas kleiner zu sein scheinen, als sie in den Abstrichen von der Leiche sind, aber eine deutliche, breite, mit Gentianaviolett blaugrau gefärbte Kapsel aufweisen (Fig. 3). Bei Färbung nach Klett umgibt die blaugefärbten Kokken eine breite, rote Kapsel. Oft konfluieren benachbarte Kokkengruppen untereinander, so daß dann zwei oder vier Tetraden in einer mächtigen gemeinsamen Hülle zu liegen scheinen. Aus dem Peritonealexsudat, dem Herzblute und aus der Milzpulpa wuchsen die injizierten Kokken in Reinkultur.

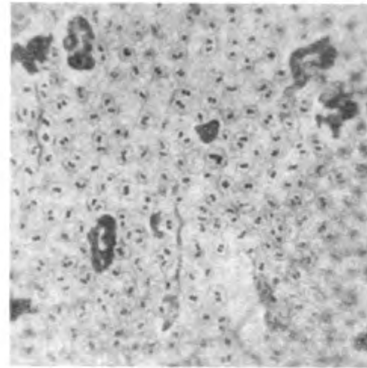


Fig. 3.

Bei einem subkutan geimpften Meerschweinchen entstand an der Impfstelle ein großer Abszeß der Bauchwand, welcher weißen, schleimig-fadenziehenden Eiter und sehr reichlich die eingespritzten Kokken enthielt.

Bei der histologischen Untersuchung der Organe der Mäuse und Meerschweinchen fanden sich allenthalben überaus reichlich die injizierten Kokken, welche das Gewebe förmlich überschwemmten. In den Alveolen der Lungen waren kleine Blutungen vorhanden. In der Leber einiger Tiere sind die Kapillaren um die Zentralvene herum stark erweitert und die Zellbalken auseinandergedrängt. Bei einzelnen Mäusen finden sich auch kleine umschriebene Ansammlungen von Leukocyten in der Marksubstanz der Nieren.

Wie aus der vorstehenden Beschreibung hervorgeht, wurde im vorliegenden Falle aus einer Pneumonie ein Keim in Reinkultur isoliert, der nach seinem kulturellen und morphologischen Verhalten als *Sarcine* oder als *Micrococcus tetragenus* anzusprechen ist. Dieser Keim gleicht vollständig der von Schläfrig (6) beschriebenen pathogenen *Sarcine*, welche in unserem Institute fortgehalten wurde und die wir daher mit unseren Kulturen zu vergleichen in der Lage waren. Diese *Sarcine* unterschied sich von unserem Stamme nur in der Hinsicht, daß sie außer für Mäuse und Meerschweinchen auch für Kaninchen pathogen war.

Für die Entscheidung, ob diese Mikroorganismen als *Sarcinen* oder als *Micrococcus tetragenus* zu bezeichnen sind, werden gewöhnlich kulturelle und morphologische Merkmale herangezogen. Kulturell ergeben sich nun zwischen diesen beiden Kokkenarten keine wesentlichen Unterschiede. Ebenso unterscheiden sie sich in Deckglaspräparaten und im hängenden Tropfen nicht durchgreifend voneinander, da einerseits der *Micrococcus tetragenus* — wie es auch Bauer (2) ausführt — Pakete bilden kann, andererseits *Sarcinen*, z. B. *Sarcina lutea* oder *Sarcina rosea*, neben Tetraden und Paketen, insbesondere in älteren Kulturen, auch kurze Ketten und Haufen bilden können. Auch das Auf-

treten von Kapseln bildet keinen prinzipiellen Unterschied. Sauerbeck hält diesen Umstand zwar für besonders charakteristisch für Sarcinen; Kaspar und Kern fanden aber Kapselbildung in einer 8-monatigen Bouillonkultur eines *Micrococcus tetragenus*, den sie anlässlich einer größeren Meerschweinchenseuche genau studiert und beschrieben haben. Auch die Tierpathogenität ergibt keine sicheren Anhaltspunkte zur Lösung dieser Frage. Es wird zwar von den meisten Untersuchern der *Micrococcus tetragenus* als für Kaninchen nicht pathogen bezeichnet, Kaspar und Kern fanden aber das Gegenteil und ihre Befunde stimmen mit denjenigen von Müller (9), Boutron (10), Bosc und Galavielle (11) überein. Sauerbecks und Burckhardts Sarcinen waren für Kaninchen nicht pathogen, Schläfrigs und Bauers Stämme hatten den Tod dieses Versuchstieres zur Folge.

Die Schwierigkeiten der Unterscheidung werden noch beträchtlicher, wenn wir uns vor Augen halten, daß derselbe Stamm bei verschiedenen Kulturbedingungen wesentliche Aenderungen in seinem Wachstum aufweisen kann.

Schläfrig beobachtete, daß die Kultur, wenn die Kokken auf künstlichen Nährböden ohne Tierpassage durch etwa 2 Monate fortgezüchtet wurden, allmählich „trockener, porzellanähnlich wurde, das schleimige Aussehen und den feuchten Glanz verlor und weniger üppig wuchs“. Auch Sauerbeck sagt von seiner Sarcine: „Die Farbe schwankte, grau war am Anfang ausschließlich vorhanden, später traten meist mehr oder weniger zahlreiche weißliche oder sogar fast rein weiße Kolonien zwischen den grauen auf; es hing dies wohl mit einem Rückgang der Kapselbildung zusammen.“

Auch wir hatten Gelegenheit bei unserem Stamme Aenderungen im morphologischen und kulturellen Verhalten zu beobachten. Ließen wir Agarkulturen bei Zimmertemperatur stehen, so entwickelten sich nach ca. 4–5 Wochen auf dem grauschleimigen Rasen weiße punktförmige Kolonien. Durch Abimpfung derselben wurden rein weiße, glänzende Kulturen gewonnen, die ein trockeneres Aussehen darboten. In mikroskopischen Präparaten bestanden die einzelnen Kolonien aus grampositiven Kokken, die teils zu Tetraden, teils zu unregelmäßigen Haufen angeordnet waren. Eine Kapsel war nicht darstellbar. In der Bouillon bildete sich ein dicker Bodensatz, die Flüssigkeit selbst blieb klar. Auf den übrigen Nährböden ergab sich keine Abweichung von dem früher geschilderten Verhalten. Bei Fortimpfung behielten diese Kulturen konstant ihr Aussehen und erhielten wir bei Züchtung auch aus alten Kulturen die ursprünglichen grauschleimigen Kolonien nicht zurück. Sie zeigten überdies auch ein anderes Verhalten im Tierversuche. Eine Maus, welcher diese Kokken in die Bauchhöhle eingespritzt wurden, ging erst nach 14 Tagen ein. Die Obduktion bot nur insofern einen abweichenden Befund, als das Exsudat in der Bauchhöhle nicht schleimig und fadenziehend, sondern mehr trocken, krümelig war. Histologisch fanden wir nur stärkere Blutungen in das Lungengewebe. Im Deckglaspräparate erschienen die Kokken kleiner, eine Kapsel wiesen sie nicht auf. Die Kulturen ergaben weiße, trockene Kolonien. In einem zweiten Versuche wurde einer Maus und einem Meerschweinchen je die Hälfte einer Aufschwemmung einer Agarkultur intraperitoneal eingespritzt. Die am 14. Tage nach der Injektion eingegangene Maus bot den gleichen anatomischen, histologischen und bakteriologischen Befund, wie die erste Maus dar. Anders verhielt sich das Meerschweinchen. Dieses ging nach



15 Tagen zugrunde. Bei der Eröffnung der Bauchhöhle fiel sofort auf, daß hier wieder ein schleimiges, fadenziehendes Exsudat vorhanden war. Sowohl in diesem Exsudate, als auch im Herzblute und in der Milz fanden sich Kokken, die im Gegensatze zu den Verimpften Kapseln aufwiesen und die Kulturen ergaben wiederum jene grauen, schleimigen Kolonien, aus welchen die injizierten weißen, trockenen Kolonien hervorgegangen waren. Auch die ursprünglich vorhanden gewesene Virulenz stellte sich wieder ein; eine Maus, welcher eine Oese der hier gewonnenen Kultur in die Bauchhöhle eingespritzt wurde, ging ebenso rasch, wie bei den ersten Versuchen ein und bot den gleichen Obduktionsbefund.

Nebenbei sei auch erwähnt, daß wir eine ähnliche Umwandlung — allerdings nur einmal — bei der Schläfrigschen Kultur beobachteten. Wir erhielten nämlich aus einer 5 Wochen alten Bouillonkultur dieses Stammes graue, schleimige Kolonien, welche für Mäuse die gleiche Virulenz besaßen, wie unsere Kultur.

Die histologische Untersuchung der Organe des eben besprochenen Meerschweinchens zeigte folgenden Befund: In der Lunge finden sich vorwiegend subpleural kleinere Blutungen. In größeren Bezirken sind die Alveolarsepta verbreitert und von polynukleären Leukocyten durchsetzt, deren Kerne vielfach in Zerfall begriffen sind. Zwischen den Leukocyten, sowie auch im Lumen der Alveolen finden sich sehr reichlich Kokken. In der Milz sind die Malpighischen Körperchen vergrößert, die Pulpa ist sehr zellreich, ihre Sinus enthalten reichlich große, einkernige Zellen, sowie polynukleäre Leukocyten. Zahlreiche Endothelien sind mit goldgelbem Pigment beladen. Zwischen den Zellen liegen allenthalben in der Pulpa verteilt reichlich kleinere und größere Haufen von Kokken, die zu Tetraden angeordnet sind. In der Niere finden sich, vorwiegend in der Marksubstanz, kleinere und größere, im allgemeinen scharf begrenzte, runde Hohlräume, durch welche die Harnkanälchen auseinander gedrängt werden. Diese Lücken enthalten ein zartes Netzwerk fädiger Massen, in welchem große Mengen von Sarcinen eingelagert sind. Hie und da finden sich hier auch losgesprengte Harnkanälchen. In anderen solchen Räumen finden sich auch sehr reichlich polynukleäre Leukocyten, die oft dicht gedrängt beisammen liegen und teilweise Kernzerfall zeigen. Einzelne dieser Abszesse sind in der unmittelbaren Umgebung größerer Blutgefäße gelegen. In der Leber ergibt sich keine wesentliche histologische Veränderung. Die Kapillaren enthalten reichlich die mehrfach beschriebenen Kokken. Im Hoden sind die Kanälchen auseinandergedrängt, so daß zwischen ihnen sehr weite, umfangreiche untereinander zusammenhängende Lakunen und Sinus entstehen, die mit polynukleären Leukocyten und Sarcinen dicht erfüllt sind; zwischen denselben spannt sich ein zartes weitmaschiges Fibrinnetz aus. Das umgebende Fettgewebe ist dicht durchsetzt von polynukleären Leukocyten, zwischen denen gleichfalls die Kokken in großer Menge anzutreffen sind. Der Abszeß in der Bauchwand, der große Mengen von polynukleären Leukocyten und Sarcinen enthält, grenzt sich gegen die Muskulatur durch eine ziemlich breite Zone kernreichen Granulationsgewebes ab.

Wie erwähnt, wuchsen in diesem Versuche aus dem Tierkörper die Kokken wieder in ihrer ursprünglichen Form. Um nun festzustellen, ob diese Umwandlung regelmäßig hervorgerufen werden könne, wurde nun je einer Maus und einem Meerschweinchen eine Kultur, die aus dem

Peritonealexsudate der zweiten Maus gewonnen worden war, intraperitoneal injiziert. Das Meerschweinchen blieb gesund und wurde nach 20 Tagen subkutan nachgeimpft. Nach 48 Stunden entwickelte sich an der Impfstelle ein kronengroßes, hartes Infiltrat. Das durch Einstich in dieses Infiltrat gewonnene Sekret wurde auf Agarplatten verimpft, es wuchsen aber wiederum die weißen, trockenen Kolonien. Die Maus ging nach 16 Tagen ein. Bei der Obduktion fanden sich — im Gegensatz zu den anderen beiden Mäusen — in der Marksubstanz der Niere umschriebene, reichlich polynukleäre Leukocyten und Kokken enthaltende Abszesse. Vielfach waren die Harnkanälchen der zugehörigen Pyramiden mit polynukleären Leukocyten angefüllt. Auch im Herzmuskel fanden sich streifenförmige Infiltrate von mehrkernigen Leukocyten und umschriebene Abszesse, in welchen sehr reichlich Kokken zu finden waren.

Während also die Tiere nach Injektion der grau-schleimigen Kulturen rasch eingingen und anatomisch außer Blutungen in den Lungen keinen besonderen Befund darboten, blieben dieselben nach Einspritzung der weiß und trocken wachsenden Kokken länger am Leben. Wie eben beschrieben, gingen die Tiere durchschnittlich erst nach 14 Tagen zugrunde, boten aber bei histologischer Untersuchung oft schwere Organveränderungen dar. Namentlich in den Nieren fanden sich reichlich durch die Sarcinen hervorgerufene Abszesse.

Wie sich aus allen diesen Versuchen ergibt, bewirkt längeres Wachstum bei Zimmertemperatur ohne neuerliche Ueberimpfung verschiedene Aenderungen im morphologischen Verhalten und in der Virulenz des beschriebenen Coccus. Da diese Veränderungen wiederholt und stets in der gleichen Weise unter den angegebenen Bedingungen beobachtet wurden, kann die Annahme, daß es sich hierbei um eine Verunreinigung der Kultur gehandelt habe, zurückgewiesen werden. Es gehören diese Veränderungen vielmehr in die Gruppe jener Erscheinungen, die neuerdings vielfach als „Mutationen“ im Sinne von de Vries gedeutet werden. Unserer Auffassung nach, die wir an anderer Stelle (12) ausführlich vertreten haben, handelt es sich bei derartigen Umwandlungen von Kulturen jedoch nicht um Mutationen, sondern eher um Modifikationen.

Kehren wir nun zur früher gestellten Frage der Unterscheidung zwischen *Sarcina* und *Micrococcus tetragenus* zurück, so müssen wir zu dem Schlusse gelangen, daß die beschriebene, durch verschiedene Kultur- und Lebensbedingungen hervorgerufene bedeutende Variabilität dieser Kokken eine Differenzierung auf Grund einzelner Merkmale nicht zuläßt. Vielmehr pflichten wir der Anschauung von Migula (13) und Lehmann und Neumann (14) bei, daß eine Trennung dieser Kokken nicht möglich ist. Migulas Bezeichnung „*Sarcina tetragena*“ drückt am besten die Stellung dieser Art in der Gruppe der Kokken aus.

Auch in Heims (15) Lehrbuch finden wir den *Micrococcus tetragenus* unter den Sarcinen und hält ihn Heim für den pathogenen Vertreter dieser Art. Mit Bezugnahme auf unseren Fall sei erwähnt, daß Heim diese Kokkenart ebenfalls aus einem Falle von Pneumonie als Erreger reinzüchtete.

Wir suchten nun, bei Tieren durch Inhalation der Kokken experimentell eine Pneumonie zu erzeugen. Zu diesem Zwecke wurden ein Meerschweinchen und eine weiße Maus in einem locker verschlossenen Glasgefäße der Wirkung eines Spray ausgesetzt. Eine Bouillonkultur wurde durch eine kleine Lücke des Deckels in dem Gefäße zerstäubt. Die Maus ging nach 2 Tagen, das Meerschweinchen nach 6 Tagen ein.

Bei der Obduktion der Tiere wurden eine entzündliche Schwellung der Halslymphdrüsen und ein beträchtlicher Milztumor gefunden. Die Lungen, sowie der Magen- und Darmkanal boten makroskopisch keine Veränderung. Ausstriche aus dem Herzblute, der Milzpulpa und dem Gewebssaft der Lungen ergaben Reinkulturen der beschriebenen Kokken. Bei der histologischen Untersuchung der Organe fanden sich allenthalben reichlich Kokken, vorzugsweise in den Gefäßen. In den Lungen sind stellenweise in der Nähe größerer Gefäße in den Alveolarsepten, vereinzelt auch in Alveolen, kleine Häufchen polynukleärer Leukocyten zu sehen.

Es gelang mithin in diesem Versuche nicht, eine Pneumonie bei den Tieren zu erzeugen, die Tiere gingen vielmehr, wie bei intraperitonealer Impfung, an einer allgemeinen Infektion zugrunde. Die Kokken könnten hierbei durch die Atmungswege oder durch den Verdauungstrakt in den Körper gelangt sein. Bei dem Umstande, als an den Atmungswegen anatomisch und histologisch keine nennenswerte Veränderung nachweisbar war, daß aber andererseits die Halslymphdrüsen geschwollen und entzündet waren, dürften wohl die oberen Abschnitte der Verdauungswege — wie es bei den Verfütterungsversuchen von Bauer u. a. der Fall war — die Eintrittspforte abgegeben haben. Hierzu war ja Gelegenheit geboten, da die Tiere an den Wänden des Glasgefäßes, an denen sich die versprayed Flüssigkeit niedergeschlagen hatte, geleckt haben konnten. Immerhin beweist dieser Versuch die hohe Pathogenität der *Sarcina tetragena* für unsere Versuchstiere.

#### Literatur.

- 1) Kaspar u. Kern, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. p. 7.
- 2) Bauer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. p. 470.
- 3) Burckhardt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70. p. 417.
- 4) Stroebe, Brunns Beitr. Bd. 83. 1913. H. 3. p. 718; ref. im Centralbl. f. Path. Bd. 24. H. 10.
- 5) Löwenberg, Ann. de l'Institut. Pasteur. 1899. p. 358 (zit. bei 6).
- 6) Schläfrig, Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 42.
- 7) Sauerbeck, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. H. 3. p. 289.
- 8) Müller u. Willich, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. H. 3. p. 124.
- 9) Müller, Wien. klin. Wochenschr. 1904. p. 815.
- 10) Boutron, Recherches sur le Micr. tetrag. septicus etc. [Thèse.] Paris 1893.
- 11) Bosc u. Galavielle, Arch. d. méd. expér. et d'anat. pathol. T. 11. 1896. No. 1.
- 12) Pollak, Allg. Wien. med. Ztg. 1913. No. 18 u. 19.
- 13) Migula, siehe bei 13.
- 14) Lehmann u. Neumann, Atlas u. Grundriß d. Bakteriologie.
- 15) Heim, Lehrb. d. Bakteriologie.



*Nachdruck verboten.*

## Fischsterben bei gleichzeitiger Vorticellenwucherung auf den Daphnien des Gewässers.

[Aus dem Hygienischen Institut in Kiel. Direktor Geheimrat Prof. Dr. Bernh. Fischer.]

Von Prof. Dr. **Reiner Müller.**

Mit 2 Figuren im Text.

In den ersten Tagen des September 1913 trat ein Fischsterben ein im „Kleinen Kiel“, einem nicht ganz 6 ha großen, höchstens 2½ m tiefen Wasserbecken inmitten der Stadt Kiel, das durch ein Rohr mit dem Kieler Hafen in Verbindung steht. An seichteren Stellen sah man Stichlinge in großen Mengen auf dem Boden liegen. Auch einige tote Aale wurden gesehen. Gleichzeitig bemerkte man rötliche wolkenartige Massen dicht unter der Oberfläche.

Zunächst untersuchte ich die Fische. Ihr Aussehen bot keine Besonderheiten; keine Schwellungen, wie sie bei Erkrankung der Stichlinge durch *Nosema anomalum* vorkommen. Vom Fischfleisch angelegte Agarkulturen blieben bei Zimmerwärme teils ohne Wachstum, teils wuchsen nur einige Kolonien, die als Verunreinigungen anzusehen waren. Ich sandte noch einige tote Stichlinge an die K. B. Biologische Versuchsstation für Fischerei in München. Diese hatte die Freundlichkeit, mir mitzuteilen, daß auch sie keine Ursache für das Sterben habe feststellen können; daß im besondern die Mikrosporidienkrankheit der Stichlinge nicht vorläge; daß, falls auch andere Fische verendet seien (was ja der Fall war), wahrscheinlich unreine Zuflüsse oder Sauerstoffmangel als Ursache anzunehmen seien.

Was zunächst die Verunreinigung betrifft, so ist das Wasser wiederholt recht unrein befunden worden. Herr Geheimrat Prof. Bernh. Fischer<sup>1)</sup> hat viele Jahre hindurch das Wasser untersucht; Wucherungen von Meerlattich (*Ulva lactuca* L.), die üblen Geruch hervorriefen, kamen im Sommer häufig vor, vor 4 Jahren auch einmal eine stinkende Verunreinigung von den Notauslässen der Regenwasserkanäle her durch Abgänge der Poudrettefabrik; aber ein Fischsterben wurde nicht beobachtet. Zur Zeit des Fischsterbens konnte ich jedenfalls keine besondere Verunreinigung feststellen. Sie hätte bei der Größe des Gewässers auch recht bedeutend sein müssen. — Ferner trat zur selben Zeit, wie ich leider erst später erfahren habe, in dem nicht damit zusammenhängenden „Schützenteiche“ im Südwesten der Stadt, in dem mehrere Kilometer entfernten Festungsgraben zu Friedrichsort, sowie in einem Teiche zu Labö ein gleiches auffälliges Fischsterben ein. Die Annahme, daß an allen diesen Stellen gleichzeitig eine Verunreinigung stattgefunden habe, halte ich nicht für zulässig.

Die Ursache der rötlichen Verfärbung im Wasser ergab sofort eine Schöpfprobe. Es waren Daphnien in erstaunlichen Mengen. Aus 2 Litern ließen sich fast 10 ccm rötlichen, aus diesen Krebstierchen bestehenden Breies absieben. Unter dem Mikroskope boten diese Wasser-

1) Ueber die Verunreinigung des Kieler Hafens. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 23.) Ferner persönliche Mitteilungen.

flöhe ein eigenartiges Bild. Jedes der Tierchen, ohne Ausnahme, war besetzt von Vorticellen, die mit ihren einzelnen, kontraktile Stielen auf der Chitinhaut sitzend, rasenartige Kolonien bildeten und bei manchen die ganze Haut fast lückenlos bedeckten. Fig. 1 zeigt in 20-facher Größe eine solche Daphnie, deren Körper nach unten gebogen ist; dadurch erscheinen auf der durchsichtigen Rückenschale die Vorticellen deutlicher. Die Tierchen waren durch heißen Alkohol getötet worden, wodurch sich viele Vorticellen ablösten, die sitzenbleibenden aber schrumpften. Fig. 2 zeigt in 85-facher Größe das Stück zwischen dem hinteren Schalenstachel und den beiden herausragenden Antennen. Ich schätzte bei den meisten mehr als 1000 solcher Glockentierchen. In der geschöpften Wasserprobe lag schon nach 2 Stunden ein großer Teil der vorher lebenden Daphnien tot



Fig. 1.

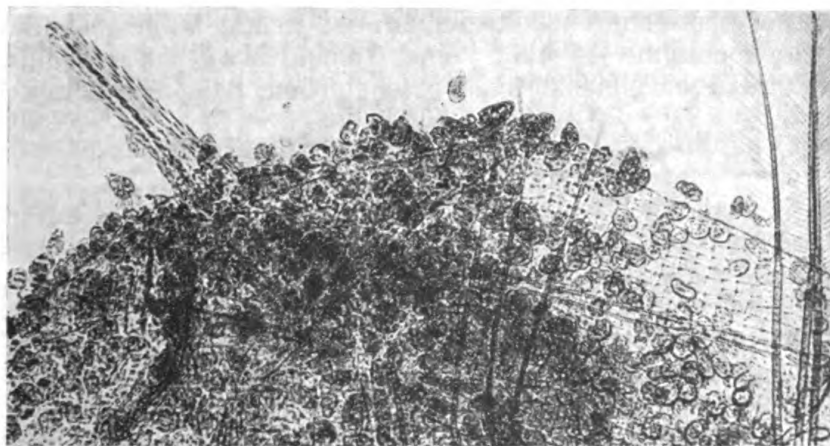


Fig. 2.

am Boden; so erklärt sich, daß schon am nächsten Tage die rötliche Verfärbung des Teichwassers verschwunden war. Auf den Stichlingen und besonders auf deren Kiemen fand ich keine Vorticellen.

Die Vorticellen sind Protozoen, die sonst nur selten und in geringer Zahl im Plankton angetroffen werden, wie z. B. aus den neueren Untersuchungen von Kolkwitz<sup>1)</sup> an 200 Gewässern hervorgeht. Sie gehören vielmehr zum „Benthos“, da sie mit ihren Stielen auf dem Boden und

1) Kolkwitz, Die Beziehungen des Kleinplanktons zum Chemismus der Gewässer. (Mitteil. a. d. K. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. 1911. H. 14.)

an den Ufern festsitzen. Im vorliegenden Falle waren aber diese fäulnisliebenden, nach Kolkwitz „polysaprophyten“ Benthosbewohner in gewaltigen Mengen durch ihr Anhaften an die schwimmenden Tierchen in das Plankton übergegangen. Wenn man die große Menge der Daphnien und der auf jeder sitzenden Protozoen bedenkt, sowie die durch die Daphnien bewirkte gleichmäßige Verteilung im Wasser, so dürfte der sehr lebhafte Stoffwechsel durchaus genügt haben, um den für Fische tödlichen Sauerstoffmangel zu erzeugen. Außerdem zeigte der dunkelgrüne Darminhalt der Daphnien, daß diese unter den sauerstoffspendenden Chlorophyllträgern, wie Algen, stark aufgeräumt hatten.

Die ungewöhnliche Menge der Daphnien setzt aber nicht unbedingt, wenn es auch wohl anzunehmen ist, eine plötzliche Vermehrung derselben voraus; denn wir wissen durch die Untersuchungen von F. A. Forel, A. Weismann und O. Zacharias, daß derartige „negativ heliotropische“, also lichtscheue Crustaceen tagsüber mehr in der Tiefe und nur nachts an der Oberfläche weilen. Wenn sie aber im vorliegenden Falle sich um die Mittagszeit in einer jedem Vorübergehenden auffallenden Weise trotz des Lichtes noch oben befanden, so war das wohl auch eine Folge des Befallenseins durch die Protozoen, ein Entweichen vor dem in der Tiefe schon herrschenden Sauerstoffmangel. In einer 2 Wochen später bei kühlerem Wetter an gleicher Stelle zur Mittagszeit entnommenen Schöpfprobe fanden sich nur wenige Daphnien, etwa 30 in 2 Litern; und auf ihnen waren keine Vorticellen mehr zu sehen. Die ungewöhnliche Vermehrung der Protozoen dürfte unter anderem wohl auch mit dem Wetter zusammengehangen haben: es war längere Zeit ungewöhnlich warm und zuletzt bewölkt gewesen. Daß sich Vorticelliden gelegentlich auf niederen Wassertierchen ansiedeln, ist schon lange bekannt (Doflein, Protozoenkunde); über eine solche Massenansiedelung auf Daphnien und über gleichzeitiges Fischsterben habe ich keine Angaben gefunden.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber einen neuen Parasiten *Metagonimus Yokogawai*, der die Forellenart *Plecoglossus altivelis* (Temminck) zum Zwischenwirt hat. Bildung einer neuen Gattung.

Von Dr. med. S. Yokogawa,

Assistenzprofessor an der Medizinschule in Formosa.

Mit 3 Tafeln.

### 1. Entdeckung des Parasiten.

Seit dem vorigen Jahre beschäftigte ich mich im Auftrage des Vereins zur Erforschung der endemischen und ansteckenden Krankheiten in Formosa mit Untersuchungen über die Lungendistomiasis, die in Shinchiku und gewissen Gegenden des Gouvernements Taihoku (Nordprovinz von Formosa) am intensivsten herrscht. Ich besuchte oftmals die heimgesuchten Ortschaften, um mich an Ort und Stelle von der Verbreitungsweise der Krankheit zu unterrichten und stellte dort an Hausenten und

Schweinen eingehende mikroskopische Untersuchungen der Muskeln und an Süßwasserfischen ebenso genaue mikroskopische Untersuchungen der Muskeln, Schuppen, Kiemenblätter, Eingeweide, besonders der Leber und des Eierstockes systematisch an; bei fast allen Süßwasserfischen fand ich mehrere Arten von encystierten Cercarien. Es gelang mir, durch Tierexperimente nachzuweisen, daß alle diese Cercarien im Körper des Endwirtes für den Parasiten geeignete Organe wählen und hierin zur Entwicklung und zum Wachstum gelangen. Einige von diesen Cercariarten lassen zwar an die Möglichkeit denken, daß sie als Parasiten im menschlichen Körper leben; aber ob das wirklich der Fall ist oder nicht, muß erst die Zukunft lehren.

Es schien mir für die Prophylaxis von großer Wichtigkeit zu sein, unter den Süßwasserfischen die Forellenart *Plecoglossus altivelis*, die von uns Japanern als Leckerbissen in Scheiben geschnitten roh, oft mit Essig, gegessen wird, auf die Anwesenheit dieser Cercarien zu prüfen. Ich untersuchte daher im Dezember 1911 mehrere Exemplare dieser Forellenart mikroskopisch und wies in ihren Kiemen eine Art encystierte Cercarien nach, die im Tierexperiment zu Saugwürmern heranwuchsen und im Dünndarm ihren eigentlichen Wohnsitz nahmen. Die Eier dieses Saugwurms haben in den Faeces mit den Eiern, welche bisher als die des *Distomum spathulatum* beschrieben wurden, große Ähnlichkeit, indem an dem einen Pole des Eies sich ein Deckel befindet, während der andere Pol in eine mehr oder weniger deutliche Verdickung oder einen Knoten endigt. Aber bei näherer morphologischer Betrachtung kann man die beiden Distomenarten leicht voneinander unterscheiden. Um festzustellen, ob der Saugwurm auch im menschlichen Körper schmarotzt, untersuchte ich die Faeces des Wirtes eines Wirtshauses in einem Dorfe, dessen Flüsse durch ihren Reichtum an *Plecoglossus altivelis* bekannt sind, sowie die eines Assistenten, der lange Zeit in diesem Dorfe gelebt und sehr oft diese Forellen roh genossen hatte, und fand darin die Eier des Wurmes, wie ich es von vornherein erwartet hatte. Dasselbe geschah dann auch mit den Stühlen von allen ambulanten und aufgenommenen Kranken des hiesigen roten Kreuzhospitals. Hierauf demonstrierte ich im März vorigen Jahres auf der Generalversammlung der Pathologischen Gesellschaft zu Tokyo und der Medizinischen Gesellschaft in Formosa den durch Tierexperimente nachgewiesenen Wurm und dessen Eier und wies auf die Möglichkeit hin, daß der Wurm verhältnismäßig häufig im Menschen als Schmarotzer lebt und daß, wenigstens bei einer gewissen Anzahl von Kranken, die als an *Distomum spathulatum* leidend angesehen und demgemäß behandelt werden, die Diagnose nicht richtig gestellt wurde, indem die Eier des neuen Saugwurmes mit denen des *Distomum spathulatum* verwechselt wurden. Prof. F. Katsurada sah den Wurm als zur Gattung *Heterophyes* gehörig an und schlug in der Versammlung der Japanischen Pathologischen Gesellschaft (im April 1912) vor, ihn vorläufig „*Heterophyes Yakogawai*“ zu taufen. Bei späteren Forschungen stellte es sich jedoch heraus, daß, obgleich die Körperorganisation des Parasiten der des *Heterophyes* sehr ähnelt, dieser eine besondere neue Gattung darstellt, so daß Katsurada mit Zustimmung des Zoologischen Instituts der Universität zu Tokyo die Gattung *Metagonimus* neu bildete und dem Parasiten den Namen „*Metagonimus Yokogawai*“ gab.

## 2. Der Zwischenwirt des Parasiten.

Anmerkung: Im folgenden nenne ich die encystierten Cercarien des Wurmes der Einfachheit halber „Larve“. Mit diesem Namen meine ich weder Miracidien, noch Cercarien, die eben den ersten Wirt verlassen haben.

Nachdem ich an *Plecoglossus altivelis* die encystierten Cercarien des Parasiten nachgewiesen hatte, dehnte ich meine Untersuchungen seit dem Frühling vorigen Jahres auf möglichst viele andere Süßwasserfische aus, um festzustellen, ob auch in letzteren diese Cercarien als Schmarotzer leben. Das Resultat war negativ. Unter diesen Süßwasserbewohnern gibt es aber nicht wenige Arten, die in denselben Gewässern unter ähnlichen Bedingungen leben wie die Forellen; sie lassen sich indes schwer fangen, weshalb ich sie nicht oft genug untersuchen konnte. So kann man die Möglichkeit, daß auch sie diese Cercarien beherbergen, nicht ohne weiteres in Abrede stellen. Jedenfalls dürften aber die Cercarien bei diesen Fischarten sehr selten zu finden sein.

Was nun den Sitz der Larven im *Plecoglossus altivelis* anbelangt, so findet man sie am zahlreichsten an den Schuppen, Flossen und dem Schwanz, weniger zahlreich in den Muskeln. In den tieferen Muskelschichten sind sie spärlich, und je näher man an die Oberfläche kommt, desto zahlreicher trifft man sie an; im Unterhautzellgewebe erreichen sie ihr Maximum. In jungen Forellen kann man sie in den Kiemen nur selten nachweisen; aber weil sie hier mit jedem Monat an Zahl gewinnen, so gelingt im Frühherbst ihr Nachweis in den Kiemen fast immer. Diesem Umstande ist es wohl zuzuschreiben, daß ich im Winter vorigen Jahres die Larven in den Kiemen von *Plecoglossus altivelis* entdeckte. Spätere Forschungen lehrten, daß sie nicht bloß in den Kiemen, sondern auch in anderen Geweben in dichten Haufen leben. Aber in den inneren Organen ist der Nachweis der Larven bis jetzt noch nicht gelungen. Diese leben zwischen den einzelnen Schuppen, die sich dachziegelartig decken; an den Kiemenblättern, Flossen und am Schwanz finden sie sich längs ihrer Achse, etwas schief oder rechtwinklig zu dieser, und in den Muskeln zwischen den Fasern und Kapseln. Hieraus kann man mit großer Wahrscheinlichkeit schließen, daß die Larven nicht, wie man bisher vermutete, durch den Verdauungskanal eindringen, sondern daß sie, nachdem sie als Cercarien den ersten Träger verlassen haben, im Wasser herumschwimmend, von dem Duft, den die Forelle von sich gibt, angezogen, sich an diese anheften, um sich dann von der Körperoberfläche ihres Zwischenwirtes aus allmählich in die Tiefe einzubohren.

Da ich nach einiger Zeit von Katsurada erfuhr, daß auch im Innern Japans der Wurm stark verbreitet ist, so reiste ich in den letzten Sommerferien dorthin, um vergleichende Untersuchungen der Larven an *Plecoglossus altivelis* anzustellen. So konnte ich nicht bloß auf Grund morphologischer Befunde, sondern auch durch Tierexperimente beweisen, daß diese Larven mit den Larven, die ich in Formosa entdeckt hatte, ganz identisch sind.

## 3. Morphologie der Larve und ihre Unterscheidung von denen des Leberdistomum (*Dist. sinense* s. *spatulatum*).

### a) Struktur der Kapsel.

Die Kapsel verhält sich je nach der Lokalisation der Larven morphologisch mehr oder weniger verschieden. An den Kiemenblättern (s. Fig. 1)

bildet sie mit deren Achse einen rechten Winkel; sie mißt 0,14—0,16 mm in der Länge und 0,1—0,12 mm in der Breite, ist dünn, von hyalinem Aussehen und an ihrer Innenseite mit einer dünnen, homogenen Membran versehen. An den Schuppen und in den Muskeln sind die Larven meist rund, haben einen Durchmesser von 0,126—0,16 mm und sind wie an den Kiemenblättern mit einer dünnen, homogenen Membran ausgestattet (s. Fig. 2). An den Flossen und dem Schwanz aber sind sie bedeutend größer und haben an der Außenseite der Kapsel eine 0,04 mm dicke oder noch dickere, hyaline Membran; sie sind im Bau ähnlich den an den Schuppen sitzenden und haben im ganzen einen Durchmesser von ungefähr 0,224 mm. Die Kapsel ist im allgemeinen hyalin, stark glänzend und erweist sich bei der Untersuchung mittels eines Polarisationsmikroskops als aus einem negativ doppeltbrechenden Stoff bestehend. Sie ist widerstandsfähig gegen mechanische und chemische Einwirkungen und undurchdringlich für Paraffin und Zelloidin. Gegen Chemikalien, besonders Säuren, widersteht sie sehr stark, so daß sie, wenn sie in den tierischen Verdauungskanal gelangt, die Larve anscheinend vor der verdauenden Einwirkung des Magensaftes zu schützen imstande ist.

#### b) Struktur der Larve.

Die Larve sitzt in der Kapsel mit gekrümmtem Körper und macht von Zeit zu Zeit Drehbewegungen, oder sie führt manchmal, indem sie sich in querer Richtung bedeutend verbreitert und wellenförmig verkürzt, peristaltische Bewegungen aus. Junge und ausgewachsene Larven unterscheiden sich voneinander in der Struktur. Die jungen Larven sind nämlich am ganzen Körper auffallend reich an Pigment und haben bloß einen vorderen und hinteren Saugnapf; der stachellose oder mit einigen schwachen Stacheln versehene Tierkörper besteht aus einem großen Zellhaufen, in dem man Speiserohr und Exkretionsblase nicht unterscheiden kann. Die Bewegungen des Körpers sind sehr träge; er reagiert auf äußere Reize mit schwachen Bewegungen. Die Kapsel der jungen Larven unterscheiden sich sehr wenig von der der ausgewachsenen. Die junge Larve liegt mit ihrem kleinen gekrümmten Körper in der Kapsel, so daß zwischen dieser und dem Tierleibe ein verhältnismäßig weiter Zwischenraum bleibt (s. Fig. 3). Die ausgewachsene Larve ist über den ganzen Körper mit kleinen Stacheln versehen; sie liegt mit gebeugtem Körper in der Kapsel und macht lebhaftere Dreh- oder peristaltische Bewegungen. Kein Zwischenraum trennt den Tierkörper von der Kapselwand. Vorderer und hinterer Saugnapf sind deutlich sichtbar, und ebenso deutlich kann man Rachen und Verdauungskanal unterscheiden. Die breite Exkretionsblase nimmt fast die ganze hintere Körperhälfte ein, und enthält eine stark lichtbrechende, grobkörnige Substanz. Die aus der Kapsel herausgenommene Larve stellt einen langen Egel dar und hat im frischen Zustande eine Länge von 0,4—0,47 mm. Der Mundsaugnapf befindet sich am vorderen Ende und etwas ventralwärts; der Bauchsaugnapf ist kleiner als der Mundsaugnapf und sitzt, wenn die Larve in der Kapsel ist, in der Körpermitte, wie bei den anderen Saugwürmern. Wenn man aber die Larve aus der Kapsel hervorzieht, so wird der Bauchsaugnapf etwas länglich und sitzt nicht in der Körpermitte, sondern ein wenig seitlich, nahe dem einen Darmschenkel. In der Mitte des Bauchsaugnapfs sieht man zwar eine von vorn nach hinten laufende, seichte Spalte durchscheinen, aber sie stellt nicht, wie bei den anderen Distomen, ein trichter- oder becherförmiges Gebilde dar und ist im hinteren Drittel des Körpers,

nahe der Exkretionsblase und an deren Vorderfläche gelegen (s. Fig. 4). Der Verdauungskanal ist deutlich ausgebildet; er beginnt mit dem Munde, der im Mundsaugnapf liegt, und geht durch den kurzen dorsalen in den stark muskulösen Rachen über, dem sich die lange Speiseröhre anschließt. Diese teilt sich vor dem oben genannten bauchsaugnapfartigen Gebilde in den rechten und linken Darmschenkel, der entlang dem Seitenrande des Körpers nach hinten läuft und nahe am Körperende blind endigt. Die Exkretionsblase, welche das hintere Drittel des Körpers einnimmt, ist am lebenden Tiere das auffallendste Organ; sie hat die Gestalt einer weiten Flasche; ihr hinteres Ende verschmälert sich und öffnet sich nach außen. In ihr befinden sich stark lichtbrechende, grobe Körner, die in mehreren Haufen der Cystenwand anliegen und unter dem Polarisationsmikroskop als eine negativ lichtbrechende Substanz sich erweisen. Am Vorderende der Exkretionsblase sieht man auf beiden Seiten je ein Kanälchen, welches von der Außenseite des Darmes entspringt und längs der Seitenwand des Körpers sich nach vorn hinzieht, um unter beträchtlicher Schlängelung an den Pharynx zu gelangen. Die Geschlechtsorgane sind noch nicht entwickelt; zu beiden Seiten und am Vorderende der Exkretionsblase sieht man nur kleine Zellengruppen. Die Haut ist dicht mit kleinen Stacheln besetzt, und entlang dem Verdauungskanal sieht man eine ansehnliche Pigmentablagerung.

c) Unterscheidung von der Larve von *Chlonorchis endemicus* s. *sinensis* (Leberdistoma).

Die Larven von *Chlonorchis* haben als Träger hauptsächlich Süßwasserfische, welche zu der Familie der Cyprinidae gehören, während die Larven von *Metagonimus Yokogawai* vorwiegend den *Plecoglossus altivelis* als Wirt aufsuchen. An der Hand dieser Tatsache könnte man, wie es scheint, die beiden Larven durch ihre biologischen Eigenschaften voneinander unterscheiden. Aber diese Unterscheidung ist keine exakte, streng wissenschaftlich begründete, und dies um so mehr, als nach dem letzten Privatbericht von Prof. Katsurada dieser in Okayama an *Carassius auratus* L. und *Leuciscus hacuensis* Gthr. die Larven meines *Metagonimus* nachgewiesen hat.

Die Hauptpunkte, worin sich die Larve des *Metagonimus Yokogawai* von der des *Chlonorchis* morphologisch unterscheidet, sind folgende:

1. Die Gestalt der Kapsel.

Die Larve von *Chlonorchis* bildet meist eine kurz-elliptische Kapsel, die im ausgebildeten Zustande 0,13—0,15 mm lang und 0,09—0,10 mm breit ist, während die Kapsel der Larve von *Metagonimus* meist rund ist und einen Durchmesser von 0,126—0,16 mm hat.

2. Die Gestalt der Larve in der Kapsel.

Die Larve des *Metagonimus* sitzt, wie die von *Chlonorchis*, mit gebeugtem Körper in der Kapsel; aber der Bauchnapf ist nicht so deutlich wie beim Leberdistoma (*Chlonorchis*) und etwas kleiner. Bei der Larve des Leberdistoma sind der Mund- und Bauchsaugnapf gleich groß, oder der letztere ist etwas größer als der erstere; bei der des *Metagonimus* aber ist der letztere immer bedeutend kleiner als der erstere (an der Larve in der Kapsel ist der Mundsaugnapf meist 0,05—0,06 mm und der Bauchsaugnapf meist 0,027—0,03 mm). Bei der Larve des *Metagonimus* sind die feinen Stacheln am ganzen Körper viel länger als bei der des Leberdistoma (0,009—0,01 mm). Sie



bedecken, etwas nach hinten gerichtet, dicht den Körper, ein Teil davon ragt von der Körperoberfläche hervor. Die negativ doppeltbrechende Substanz in der Exkretionsblase ist auch für die Unterscheidung der beiden Larvenarten von Wichtigkeit. Sie stellt bei der Larve des *Metagonimus* feinere Körner dar, als bei der des Leberdistoma und bildet mehrere runde Haufen, während sie bei der Larve des Leberdistoma als sehr grobe Körner das Innere der Blase ausfüllt.

Man kann die Larven des *Metagonimus* zu Beginn der Fangzeit der Forellen, im Mai, stets nachweisen, aber zu dieser Zeit meistens als junge Formen; diese nehmen indes mit jedem Monat immer mehr an Zahl ab, um im September und Oktober ausgewachsenen Formen mit einer meist etwas größeren Kapsel fast gänzlich Platz zu machen. Jedenfalls scheinen die Larven vorwiegend im Frühling und Frühsommer in die Muskulatur der Fische einzudringen.

Außer den Larven des *Metagonimus* habe ich an den Kiemenblättern der Forelle noch zwei Arten von Larven unterschieden. Aber diese sind kleiner, ihre elliptische, 0,105–0,119 mm lange und 0,056–0,07 mm breite Kapsel befindet sich nahe der Achse des Kiemenblattes, rechtwinkelig oder etwas schief zu dieser gestellt. Der Mundsaugnapf ist mit kurzen Stacheln ausgestattet, der Tierkörper aber fast bewegungslos und von undeutlicher Struktur. Von diesen Larven läßt sich im Tierexperiment der ausgewachsene Wurm noch nicht mit Sicherheit nachweisen. Man kann zwar nicht ohne weiteres leugnen, daß diese Larvenarten unter Umständen in den menschlichen Körper einwandern können; sie dürften aber in dieser Beziehung nicht von großem Belang sein.

#### 4. Gestaltveränderungen der Larve in der Entwicklungsperiode.

Um Klarheit in die Frage zu bringen, ob die Larven des *Metagonimus*, nachdem sie in den Verdauungstraktus von Menschen oder Säugetieren gelangt sind, sich entwickeln können, und welche Organe sie mit Vorliebe zum Aufenthaltsort wählen, fütterte ich einen kleinen Hund mit einigen Forellen, die mit den Larven des Wurms behaftet waren. Ich schlachtete diesen nach etwa 3 Stunden und untersuchte den Magen- und Darminhalt. Da fand ich die Fische im Magen und Anfangsteil des Darmes teils schon verdaut als breiartige Masse, teils unverändert, nur ein wenig aufgequollen vor. In der breigen Masse hatten sich die Kapseln bereits von den Muskeln und Schuppen abgelöst und schwammen im Magensaft herum, aber hier vermißte ich die aus der Kapsel frei gewordenen Larven. Dagegen fand ich in der, der Schleimhautoberfläche des Zwölffingerdarms entnommenen, breiartigen Masse leere Kapseln an den Schuppen und freie Larven, welche sich lebhaft wie Blutegel bewegten. Hieraus kann man mit Bestimmtheit schließen, daß die Larven der verdauenden Einwirkung des Magensaftes Widerstand leisten und erst im Darmkanal höherer Tiere ihr parasitäres Leben beginnen. Auf Grund weiterer Tierversuche konnte ich den Beweis erbringen, daß es sich hier um einen Saugwurm handelt, dessen charakteristischer Wohnort der Dünndarm von Säugetieren ist. Dieser Saugwurm erinnert in seinem Körperbau an die Gattung *Heterophyes*, unterscheidet sich jedoch in den Beziehungen zwischen Bauchsaugnapf und Geschlechtsscheibe wesentlich von ihr. Um nun die Gestaltsveränderungen, die der Wurm in der Entwicklung durchmacht, besonders die Veränderungen der Geschlechtsscheibe und des Bauchsaugnapfs, zu



verfolgen, wurden mit Hilfe des Mikroskops die Larven des Wurms isoliert und mit diesen Fütterungsversuche an Mäusen angestellt.

Die Entwicklung des Tierkörpers, die Schnelligkeit des Wachstums, die Körpergröße und der Grad der Gestaltveränderungen müßten selbstverständlich je nach der Art und dem Ernährungszustand sowie der Individualität des Wirtes und den Verhältnissen der Umgebung verschieden sein. So findet man an ein und demselben Wirt zuweilen neben bereits geschlechtsreifen Exemplaren noch junge Formen. Meine Versuche, die ich im folgenden schildere, wurden ausschließlich an gut ernährten Mäusen angestellt. Die Größe des Tierkörpers und der einzelnen Eingeweide wurde bis auf wenige Ausnahmen im frischen Zustande gemessen.

3 Stunden nach der Fütterung (s. Fig. 5):

Das Tier unterscheidet sich wesentlich von einem aus der Kapsel herausgenommenen Exemplare und ist im Ruhezustande dicker als dieses. Es bewegt sich vorwärts, indem es den Vorderleib bedeutend vorstreckt und wieder zusammenzieht, wobei der Hinterleib nur in geringem Maße seine Gestalt ändert. Die Oberfläche des elliptischen Bauchsaugnapfes sieht zwar wie eine Spalte aus, aber er öffnet sich nicht nach der Bauchseite; er ist etwas seitlich gelegen und öffnet sich an einem Teil seines vorderen, inneren Endes wie ein nach vorn innen offener Sack nach vorn und ventralwärts. Seine Fasern sind etwas strudelartig gedreht. Bei der Bewegung des Tieres verhält sich der Bauchsaugnapf mit dem Hinterleib nur passiv und ändert sich fast gar nicht. Die Exkretionsblase ist etwas kleiner geworden; die darin enthaltene körnige Masse hat ihren Glanz eingebüßt und ist zu einer großen Kugel zusammengeschmolzen. Hierdurch ist zwischen den Darmschenkeln, die zu beiden Seiten des Körpers laufen, ein verhältnismäßig breiter Spielraum entstanden, so daß man auf den beiden Seiten und am vorderen Ende der Blase mehr oder weniger deutlich die Anlage der Hoden und des Eierstockes wahrnehmen kann.

10 Stunden nach der Fütterung:

Auf den beiden Seiten und am Vorderende der Exkretionsblase ist die Anlage von Hoden und Eierstock deutlich sichtbar. Der Bauchsaugnapf ist immer mehr seitlich, und zwar nach rechts verlegt. Oberhalb der Eierstockzellen ist ein Zellhaufen wahrnehmbar, der durchsichtiger ist als die übrigen Teile.

22 Stunden nach der Fütterung (s. Fig. 6):

Geschlechtsdrüsen deutlich entwickelt. Die Hoden, die zu beiden Seiten der Exkretionsblase saßen, liegen, bedeutend größer geworden, im hinteren Teile des Körpers und ragen in die Exkretionsblase hinein. Die Zellmasse, die am Vorderende der Blase lagerte, hat sich auch beträchtlich vergrößert und ist zum Ovarium geworden. Hierdurch hat sich die Exkretionsblase, die zwischen den Hoden und dem Eierstock lag, zu einem kleeblattartigen Gebilde verschmälert. Der Zellhaufen vor dem Ovarium und auf der Innenseite des Bauchsaugnapfs verbreitert sich immer mehr, bis er sich mit diesem berührt und erscheint ein wenig gewunden, so daß man darin die Anlage der Samenblase und des Uterus vermuten kann.

48 Stunden nach der Fütterung (s. Fig. 7):

Tierkörper von ansehnlicher Größe. Hoden und Eierstock haben auch an Umfang zugenommen. Der etwas gewunden erscheinende Zellhaufen auf der Innenseite des Bauchsaugnapfs verbreitert sich unregel-

mäßig bis zur innigen Berührung mit letzterem. Nur mit Mühe kann man hier Samenblase und Uterus unterscheiden.

76--100 Stunden nach der Fütterung:

Hoden und Eierstock sind beträchtlich vergrößert, so daß die Exkretionsblase sich zu einem dicken, unregelmäßig Y-förmigen Gebilde verschmälert hat. Der feine Kanal, welcher von den beiden Hörnern dieses Y-förmigen Gebildes nach vorn läuft, wird immer deutlicher und geht über die Ventralseite des Darmkanals an dessen Außenseite, um dann entlang der Seitenwand des Körpers an den Pharynx zu gelangen. Auch der Bauchsaugnapf gewinnt allmählich an Größe; in der Zellen-Gruppe, an der Innenseite desselben, kann man jetzt deutlich den Uterus und die Samenblase unterscheiden. An der äußeren Oeffnung der Gebärmutter befindet sich eine kleine Erweiterung, die mit dem vorderen Ende des Bauchsaugnapfes in Verbindung steht. An dieser Verbindungsstelle, dicht neben dem Vorderende des Bauchsaugnapfes, liegt ein hell glänzendes, nebennierenartiges Körperchen, welches auch beim fertig entwickelten Wurm zu sehen ist und hauptsächlich aus einem fleischigen, die Seitenwand des Genitalnapfes bildenden Höckerchen besteht.

120—150 Stunden nach der Fütterung (s. Fig. 8):

An dem ansehnlich entwickelten Tierkörper von länglich elliptischer Gestalt lassen sich durch den bloß angedeuteten Hals noch zur Not Vorder- und Hinterleib unterscheiden. Der Tierkörper hat einen Längsdurchmesser von 1,12 mm und einen Querdurchmesser von 0,45 mm im Maximum. Der Bauchsaugnapf am rechten Seitenrande des Körpers hat in bedeutendem Maße an Umfang zugenommen und übertrifft den Mundsaugnapf an Größe. Er ist von elliptischer Gestalt, sitzt etwas schief und ist 0,096—0,100 mm lang und 0,06—0,068 mm breit. Durch eine fibröse Membran ist er scharf gegen die übrigen Teile abgegrenzt und erscheint nach der Bauchseite hin etwas vorgewölbt. Man kann zwar durch die Oberfläche des Bauchsaugnapfes hindurch deutlich eine Spalte sehen, aber er öffnet sich nicht ventralwärts. Er ist fast auf der ganzen Fläche mit kurzen Stacheln besetzt, wie die Haut der übrigen Teile; nur ein kleiner Teil am Vorderrande ist stachellos und von ausgesprochen fibrösem Bau und macht schwache Drehbewegungen und Kontraktionen, wobei er mehr oder weniger nach vorn vorgewölbt erscheint.

Die Differenzierung der anderen Geschlechtswerkzeuge hat sich jetzt schon vollzogen. Die kurz elliptischen Hoden setzen zu beiden Seiten des Hinterleibs und haben einen Durchmesser von 0,17—0,182 mm. In der Regel liegt der rechte Hoden tiefer und ist größer als der linke. Der Eierstock ist kuglig und in der Mitte des Hinterleibs gelegen; sein Durchmesser beträgt 0,097—0,100 mm. Auf der rechten unteren Seite des Ovariums befindet sich das birnförmige Receptaculum seminis. Die gallenblasenartig geformte Samenblase nimmt die Innenseite des Bauchsaugnapfes ein und bekommt Samentierchen. Die Gebärmutter dehnt sich sehr weit bis zu beiden Seitenrändern des Hinterleibs aus und füllt den Zwischenraum zwischen den übrigen Geschlechtsdrüsen aus. Sie enthält 20—30 Eier, welche meist farblos sind und teils aus einer homogenen Substanz, teils aus glänzenden Körnchen bestehen. Wenn nach der Fütterung mehr als 150 Stunden vergangen sind, so werden 1 oder 2 Eier am Vorderende der Gebärmutter ganz reif; sie sind dann gelblich-braun und voll von Inhalt. Die Dotterstöcke, die bekanntlich später entstehen als die anderen Geschlechtsdrüsen, sind zu dieser Zeit schon deutlich zu erkennen; sie liegen teils längs den beiden Seitenrändern des

Hinterleibs dicht nebeneinander, teils zwischen den anderen Geschlechtsdrüsen zerstreut. In der Nähe des Eierstocks, dessen Anfangsteilen entlang, befindet sich ein verhältnismäßig großer Zellhaufen, welcher wahrscheinlich den späteren Schalendrüsen entspricht. Die Zeit, die der Tierkörper zur Differenzierung der Geschlechtsorgane braucht, beträgt 2, 5—3 Tage. Da beginnt die Eierbildung; in 4—5 Tagen ist der Uterus voll von Eiern und nach 7—10 Tagen fängt er an, die Eier auszuscheiden. Für gewöhnlich kann man aber im Stuhle erst nach 12 bis 14 Tagen Eier nachweisen.

### 5. Der ausgewachsene Wurm.

#### Außere Form:

Der Wurm ist im allgemeinen klein; selbst der größte erreicht selten eine Länge von 2,5 mm, seine Länge beträgt meistens 1,0 bis 1,5 mm. Der Tierkörper ist im frischen Zustande lang elliptisch; durch den kaum angedeuteten Hals kann man noch zur Not Vorder- und Hinterleib unterscheiden. Der Vorderleib ist lanzenförmig, etwas schmal; sein Querschnitt stellt eine platte, in die Quere gezogene Spindel oder Ellipse dar. Bauch- und Rückenseite mit derselben Krümmung. Der Teil von dem Bauchaufnapf abwärts ist dicker als der Vorderleib und mit platter Bauch- und Rückenseite. Die Bauchseite ist platter als die Rückenseite, selbst sogar leicht konkav. Aber unterhalb der Samenblase, in der Höhe des Eierstocks, wölben sich Bauch und Rücken hervor, so daß hier der Querschnitt eine unregelmäßige Ellipse darstellt und die größte Dicke 0,16—0,25 mm beträgt. Von der Höhe des linken Hodens abwärts gegen das Hinterende hin wird der Körper wieder schmaler. Hierdurch erscheint der ganze Wurm wie ein Ei oder eine Birne mit abgeplattetem Vorderende. Der ganze Tierkörper ist mit kurzen, nagelförmigen Stacheln ausgestattet. Diese sind am vollentwickelten Tiere 0,0096—0,01 mm lang und schief nach hinten und außen gerichtet. Bei der Larve ist der ganze Körper gleichmäßig dicht mit ihnen besetzt. Da aber beim Heranwachsen der letzteren die einzelnen Körperteile nicht gleichmäßig an Größe zunehmen, so ergibt sich daraus, daß der Vorderleib mit seinem relativ geringen Wachstum üppig mit Stacheln bewachsen erscheint, während der stärker wachsende Hinterleib beim vollentwickelten Wurm mit sehr spärlichen, kurzen Stacheln versehen ist, die am hinteren Körperende nur spurweise vorhanden sind.

Wenn man den lebenden Wurm aus dem Darmkanal des Wirtes herausholt und in physiologischer Kochsalzlösung oder in Kochsalzlösung mit Eiweißzusatz untersucht, so sieht man, wie es egelartige Bewegungen ausführt, indem er hauptsächlich den Vorderleib hervorstreckt und wieder zusammenzieht. Hierbei dehnt sich dieser zuweilen fadenförmig aus und wird 3,0 mm und darüber lang, während er ein andermal sich fast bis zur Kugelform stark zusammenzieht, so daß eine Unterscheidung von Vorder- und Hinterleib unmöglich wird. Der Hinterleib hingegen bleibt breit und zeigt keine auffallenden Veränderungen; er verhält sich den Gestaltveränderungen des Vorderleibes gegenüber passiv. Am Vorderende des Körpers befindet sich der trichterförmige, etwas ventralwärts gerichtete Mundsaugnapf von starkem, fleischigem Bau. Der breite Hinterleib enthält die Geschlechtsdrüsen. Noch am hinteren Körperende finden sich 2 große Hoden, je einer rechts und links. Das Ovarium ist kugelig und in der Mittellinie vor dem Hoden gelegen. Zwischen den Hoden lagert die schmale Exkretionsblase mit der Oeffnung am

hinteren Körperende. An der Stelle, wo der Hinterleib in den Vorderleib übergeht, sitzt auf der rechten Seite der große, elliptische Bauchsaugnapf.

Die Größe des Wurms muß natürlich, wie bei den anderen Eingeweidewürmchen, je nach dem Grade der Entwicklung, der Art des Wirtes und sonstigen Umständen mehr oder weniger verschieden sein. Da aber der Wurm im allgemeinen von geringer Größe ist, so wird er in seiner Größe von den Einflüssen der Umgebung sehr wenig berührt. Deshalb sind alle Exemplare des Wurmes fast gleich groß, wenn sie einen gewissen Grad der Entwicklung hinter sich haben. Nur die Art der Fixierung und der Fixierungsflüssigkeit, sowie die Konzentration derselben beeinflussen in mehr oder weniger bedeutendem Maße seine Größe. Im frischen Zustande ist dagegen die Differenz in der Größe sehr gering. Folgende Tabelle gibt meine Messungen an frischen und gehärteten Tierkörpern wieder:

Tabelle I.

	Frisch	In der Hitze fixiert	In heißer HgCl <sub>2</sub> -Lösung geschüttelt	In Sublimatesigsäurelösung
Länge in mm	1,380 (1,125—1,650)	0,907 (0,982—0,840)	0,778 (0,790—0,770)	0,680 (0,982—0,560)
Breite in mm	0,577 (0,425—0,730)	0,450 (0,400—0,526)	0,403 (0,490—0,350)	0,428 (0,520—0,350)
Zahl der gemessenen Exemplare	20	10	10	10

Wie aus der Tabelle ersichtlich, schwankt die Größe des Wurms je nach der Art der Fixierung und der Fixierungsflüssigkeit mehr oder weniger erheblich. Aber im frischen Zustande unterscheiden sich sowohl diejenigen Exemplare, die im menschlichen Körper leben, als auch diejenigen, die Hunde oder Katzen zu ihren Trägern haben, nicht wesentlich in der Größe; sie sind meist 1,0—1,5 mm lang und 0,4—0,7 mm breit.

Die Bewegungen, welche der vollentwickelte Wurm ausführt, sind im Vergleiche mit denen der jungen Formen sehr träge.

#### Saugnäpfe:

Der wie eine runde Scheibe geformte Mundsaugnapf sitzt am vorderen Körperende und hat beim lebenden Tiere einen Durchmesser von 0,077—0,085 mm. Seine Rückenseite ist etwas ventralwärts gerichtet, indem sie länger ist als die Bauchseite. Wenn man den Saugnapf in Längs- und Querschnitten untersucht, so findet man, daß er sich aus starken Radiär- und Ringfasern zusammensetzt. Der dickste Teil der Wandung des Saugnapfs weist auf der Rücken- und Bauchseite keinen nennenswerten Unterschied in der Dicke auf, indem diese meist 0,02—0,025 mm beträgt. In der Länge aber besteht ein auffallender Unterschied zwischen Rücken- und Bauchseite. Die letztere ist nämlich in der Regel 0,04—0,05 mm lang, während die erstere 0,0057—0,065 mm lang ist und von der Rücken- nach der Bauchseite zu in geringem Grad geneigt ist. Infolgedessen bildet der Innenraum des Saugnapfes einen eigentümlichen, von vorn nach hinten gerichteten Trichter. Am lebenden Tier zeigt der Saugnapf große Bewegungsfähigkeit; man sieht, wie das Tier den Vorderleib hervorstreckt und mit dem Saugnapf an andere Gegenstände sich fest saugt und den Hinterleib nach sich zieht.

Der Bauchsaugnapf, ein dem Wurm eigentümliches Organ, hat einige Beziehungen zum Genitalnapf. Er ist eirund oder birnförmig, liegt auf der rechten Seite und stößt mit seiner äußeren Seite an den

Darm. Er sitzt schief mit seiner von vorn innen nach rechts hinten außen gerichteten Längsaxe. Im frischen Zustande beträgt sein Längsdurchmesser 0,120—0,14 mm, und sein Querdurchmesser 0,08—0,10 mm. Der Bauchsaugnapf sitzt tief unter der Cuticula, und zwischen ihm und dem halbmondförmigen muskulösen Körper, der vor dem Vorderende des Bauchsaugnapfes liegt, befindet sich eine spaltförmige Furche. An seiner Oberfläche kann man nach wie vor eine röhrenförmige Spalte hindurchsehen, aber diese öffnet sich nicht wie bei den anderen Saugwürmern, nach der Bauchfläche. Auf die Beziehungen zwischen diesem eigenartigen Bauchsaugnapf und dem Genitalnapf werde ich weiter unten unter der Rubrik „Geschlechtsorgane“ ausführlicher zu sprechen kommen (s. Fig. 9).

#### Struktur:

Die Cuticula, die äußerste Schicht des Tierkörpers, ist dick (0,0024 bis 0,004 mm), sie ist am Hinterleibe etwas dicker als am Vorderleibe. Die starken Stacheln, welche den ganzen Körper dicht bedecken, ragen tief in die Cuticula hinein, die hier knotenförmig verdickt ist.

Dagegen ist der Hautmuskel, der unter der Cuticula liegt, im Vergleich zu dieser schwach entwickelt, jedoch kann man an ihm 3 Schichten, Ring-, Längs- und Schrägfasern, noch deutlich unterscheiden.

Der Parenchymmuskel am Hinterleibe ist schwach entwickelt, doch noch gut erkennbar und zieht sich vorwiegend von der Rücken- gegen die Bauchseite. Dicht unter dem Hautmuskel, besonders in der inneren Muskulatur des Vorderleibes, liegen runde, elliptische oder unregelmäßig viereckige, große Zellen zerstreut. Sie enthalten ein breites, mit Eosin intensiv färbbares Protoplasma und einen relativ kleinen, runden Kern; sie sind morphologische Drüsenzellen und besonders längs des Oesophagus in großer Zahl anzutreffen.

#### Verdauungswerkzeuge:

Der Verdauungstraktus beginnt mit dem im Mundsaugnapf befindlichen Munde, der durch den kurzen Vorrachen in den stark muskulösen Pharynx übergeht. Der etwas längliche Pharynx hat im frischen Zustande eine Länge von 0,05—0,06 mm und eine Breite von 0,045—0,052 mm und setzt sich gleich in den langen Oesophagus fort. Dieser nimmt zwei Drittel des Vorderleibes ein, spaltet sich an der Grenze zwischen Vorder- und Hinterleib in den rechten und linken Darmschenkel, welche der Hauptsache nach auf der Bauchseite an den Seitenrändern des Körpers sich nach hinten begeben, um nahe am hinteren Körperende blind zu endigen. Beide Darmschenkel sind nicht immer gleich lang; gewöhnlich ist das linke länger als das rechte, und reicht bis an den hinteren Pol des Hodens und der Exkretionsblase der betreffenden Seite. Der rechte aber endigt meist in der Höhe des vorderen Poles oder des mittleren Teiles des rechten Hodens und erreicht selten den hinteren Pol desselben.

An Frontal-, Längs- und Querschnitten untersucht, stellt der Mundsaugnapf einen Trichter dar, der ventralwärts sieht. Zwischen ihm und dem Rachen befindet sich eine kleine, dreieckige, sackartige Vorstülpung, die sich vorwiegend dorsoventralwärts ausdehnt, die Pharyngealtasche. Ihr breitester Teil hat einen Durchmesser von etwa 0,024 mm, und die Tasche erstreckt sich von der Mitte fast gleich weit dorsal und ventralwärts; Der Höhendurchmesser in der Mitte beträgt ungefähr 0,006 mm (s. Fig. 11). Der stark muskulöse Pharynx hat einen Längsdurchmesser von 0,028—0,035 mm, einen Breitendurchmesser von 0,024—0,035 mm

und einen Dorsoventraldurchmesser von 0,035—0,043 mm. Sein länglich elliptisches oder spindelförmiges Lumen erstreckt sich hauptsächlich in dorsoventraler Richtung und hat einen Längsdurchmesser von etwa 0,02 mm und einen Querdurchmesser von 0,025 mm. Der Oesophagus ist dünn und hat eine membranartige Wandung, die im Querschnitt eine längliche Ellipse darstellt. Er erweitert sich, wie der Pharynx, in dorsoventraler Richtung und teilt sich nahe dem hinteren Ende des Vorderleibs in einen rechten und linken Darmschenkel. An dieser Bifurkationsstelle bildet die hintere Wand einen weit stumpferen Winkel als die vordere. Infolgedessen ist hier das Lumen sehr weit; es hat im Anfangsteile einen Durchmesser von 0,035—0,04 mm. Die Wandung des Darms ist relativ dick (0,0035—0,005 mm) und die Innenfläche mit einer Schicht von kurzen Zylinderepithelzellen ausgekleidet.

#### Ausscheidungs Vorrichtung:

Zu beiden Seiten des Tierkörpers zieht sich je ein Hauptkanal (Lymphkanälchen) von vorn nach hinten. Der vordere Teil desselben löst sich in Kapillarröhrchen auf und bildet mit denen der anderen Seite ein Maschenwerk. Die vorderen Enden der Hauptkanäle bilden zu beiden Seiten des Pharynx eine knotenförmige Erweiterung. Ihre hinteren Enden gelangen, nachdem sie die beiden Darmschenkel gekreuzt haben, an die Innenseite derselben und münden unterhalb des Receptaculum seminis in die Exkretionsblase. Dieselbe hat ihren Sitz zwischen dem rechten und linken Hoden und nimmt im Anfang als ein großer, birnförmiger Sack den größten Teil des Hinterleibes ein. Sie verschmälert sich aber, entsprechend der Größenzunahme der Hoden, nach und nach zu einem langen, unregelmäßig Y-förmigen Schlauch und kommt, von den Hoden zurückgedrängt, auf die Bauchseite des Hinterleibes zu liegen, wo sie sich am hinteren Körperende öffnet.

#### Geschlechtsorgane:

Dieser Wurm ist auch Zwitter, wie andere Saugwürmer.

##### a) Die männlichen Geschlechtsorgane:

Die Hoden sind unregelmäßig runde oder elliptische Körper, welche nahe am hinteren Körperende symmetrisch zu beiden Seiten der Exkretionsblase liegen. Sie sind so groß, daß sie das ganze hintere Körperende einnehmen. Der rechte liegt etwas tiefer als der linke. Die Samenleiter sind schmale Schläuche, die von den vorderen, inneren Enden der Hoden entspringen. Sie ziehen sich auf der Rückenseite des Receptaculum seminis und des Uterus nach vorn und vereinigen sich auf der linken Seite des Eierstocks zu einem Kanal, der nach vorn läuft und in das obere linke Ende der Samenblase mündet. Die Samenblase (Vesicula seminalis) sitzt in Form einer querliegenden, langen Retorte auf der Innenseite des Bauchsaugnapfes und erscheint ein wenig um die Längsachse gedreht. Sie hat nahe am linken Ende eine Einschnürung. Die schmale Vorderseite des rechten Endes bildet die röhrenförmige Pars prostatica und ist von den Prostatazellen umgeben. Die Pars prostatica beschreibt von rechts nach innen vorn einen flachen Bogen und zieht als Ductus ejaculatorius ventralwärts. Dieser tritt auf der rechten Seite des Körpers in der Nähe des vorderen Endes des Bauchsaugnapfes mit dem Endteil des Uterus in Verbindung und bildet den etwas weiten und kurzen Genitalsinus, der sich zwischen den Bauchsaugnapf und den halbmondförmigen Körper vorschiebt. Wohin nun der Genitalsinus mündet, das ist bei unserem Wurm eine recht interessante Frage.

Bei Untersuchungen an frischen Präparaten findet man, daß die Samentierchen aus der Samenblase durch den Ductus ejaculatorius direkt in die Uterushöhle gelangen, oder daß sie, nachdem sie einmal in den Genitalsinus eingedrungen sind, wieder umkehren und in die letztere einwandern. Zuweilen werden auch aus der Uterushöhle gegen den Genitalsinus Eier hinausgeschleudert. Auf diese Weise kann man die Beziehungen zwischen Samenblase, Genitalsinus und Uterushöhle klar beweisen. Aber der Bauchsaugnapf und der Genitalnapf haben innige Beziehungen zueinander. An frischen oder ganzen Präparaten stellt der Bauchsaugnapf ein großes, sackartiges Organ dar, an dessen Oberfläche man eine spaltartige Rinne hindurchsehen kann. Diese öffnet sich aber nicht nach der Bauchseite hin. Sein vorderes Ende wendet sich nach vorn innen und mündet zusammen mit der äußeren Oeffnung der Geschlechtsorgane in eine Grube am vorderen Ende des Bauchsaugnapfes aus. Untersucht man nun diesen Teil in Serienschnitten in verschiedenen Richtungen, so erweist er sich etwas tiefer gelegen als die Umgebung und bildet eine kleine, unregelmäßig runde Grube. An Quer- und Seitenschnitten (s. Fig. 12 u. 13) ist die Haut dieser Gegend dorsalwärts ausgehöhlt und bildet eine runde Grube, welche an Frontalschnitten einen Durchmesser von etwa 0,016—0,024 mm und eine Tiefe von 0,02—0,026 mm hat. Die äußere Mündung des Bauchsaugnapfes tritt mit der der Geschlechtsorgane in Verbindung und wendet sich nach vorn innen, um sich in den Boden der Grube zu öffnen.

Der Bauchsaugnapf ist, wie oben erwähnt, ein ovales oder birnförmiges, sackartiges Organ, welches tief im Parenchymmuskel steckt. Seine Längsachse ist von rechts außen hinten nach links innen vorn geneigt, sein Querschnitt beinahe rund. Das Vorderende des Bauchsaugnapfes liegt an der vorderen Grenze des Hinterleibs, entsprechend dem rechten Drittel des Körpers, in der Mittellinie zwischen Bauch und Rücken. Das Hinterende ist größer als das Vorderende, liegt etwas rechts, in dem rechten Viertel des Körpers und in der Mittellinie zwischen Bauch und Rücken. Das Lumen des Bauchsaugnapfes ist eng, beinahe birnförmig. Der weitere Bodenteil der Höhle stellt eine unregelmäßig runde Höhle mit einem Durchmesser von 0,012—0,015 mm dar, die sich aber nach vorn zu einem feinen Röhrchen verschmälert, dessen kleinster Durchmesser bloß 0,0025—0,003 mm beträgt. An der Mündungsstelle erweitert sich das Röhrchen wieder zu einem Durchmesser von 0,007 mm und darüber. Deshalb erinnert die Höhle des Bauchsaugnapfes in ihrer ganzen Gestalt an eine verlängerte Birne, der das eine Ende nahe am Stiel abgeschnitten ist. Aber zuweilen bildet die Höhle des Bauchsaugnapfes einen langen Hohlraum von lang elliptischer oder unregelmäßig dreieckiger Gestalt. Die Wandung des Bauchsaugnapfes ist dick und besteht der Hauptsache nach aus Ring- oder Radiärfasern. Diese Fasern sind im allgemeinen schwächer entwickelt als am Mundsaugnapf, besonders die am Vorderende sind äußerst fein und fast kernlos. Gegen das Hinterende hin werden sie aber nach und nach gröber, die Kerne nehmen auch bedeutend an Zahl zu und umlagern den Innenraum.

Der Genitalnapf, ebenfalls ein eigentümliches Organ<sup>1)</sup>, schließt eine spaltförmige, enge Höhle in sich, die sich entlang der Innenseite des

1) Der Ausdruck „Genitalnapf“ würde bei unserem Wurm allerdings richtiger durch den Ausdruck „Genitalsack“ ersetzt, da seine Gestalt sackförmig, wie sein charakteristischer Bauchsaugnapf ist; nur der Bequemlichkeit wegen will ich den Ausdruck „Genitalnapf“ beibehalten.

Bauchsaugnapfes hauptsächlich von vorn nach hinten ausdehnt. Der Genitalnapf umkreist die halbe Innenseite des Bauchsaugnapfes; sein hinteres Ende reicht bis an die hintere Hälfte des letzteren; er umschließt am vorderen Ende des Bauchsaugnapfes diesen vollständig und verbindet sich in der Höhe des vorderen Endes des Bauchsaugnapfes mit diesem und öffnet sich nach vorn innen. Seine Wandung setzt sich aus starken Ringfasern zusammen; an der oberen vorderen Wand ragt gegenüber dem vorderen Ende des Bauchsaugnapfes ein starker, halbmondförmiger, fleischiger Knoten hervor und lagert mit dem gegenüberliegenden fleischigen Knötchen vor der äußeren Oeffnung des Genitalnapfes. Das innere Ende des halbmondförmigen Knotens reicht bis an die Mündungsstelle des Genitalsinus und scheint, indem es auf die Mündungsstelle einen Druck von oben ausübt, die einmal in den Genitalnapf eingewanderten Eier am Rücktritt zu verhindern. Diese Mündungsstelle ist in der Höhe des Vorderendes des Bauchsaugnapfes gelegen und kommt von links innen und dringt von der unteren Grenze des halbmondförmigen Knotens in den Genitalnapf. Dieser Teil ist unten noch mit einer klappenartigen Scheidewand versehen, so daß zwischen dieser und dem halbmondförmigen Körper ein schmaler Zwischenraum bleibt. Die äußere Mündung des Genitalnapfes verbindet sich mit der des Bauchsaugnapfes, wendet sich dann in der Höhe des Vorderendes des letzteren vorn nach innen und ergießt sich mit einer kleinen, runden Oeffnung in die Grube am Vorderende des Bauchsaugnapfes. Die Umgebung dieser Oeffnung ist mit besonders feinen Radiärfasern, wie mit Flimmerhärchen ausgestattet und erinnert so sehr an eine Genitalpforte, daß sie, wie mir scheint, mehr „Genitalpforte“, als die „äußere Oeffnung des Bauchsaugnapfes“ genannt zu werden verdient. Auch der Bau spricht für diese Auffassung. Dieser Teil ist nämlich durch das eine Ende des halbmondförmigen Knotens sphinkterartig umschlossen, und die äußere Oeffnung des Bauchsaugnapfes mündet in die furchenartige Spalte des Genitalnapfes. Hierdurch unterscheidet sich der halbmondförmige Knoten von der den Tokotremen eigentümlichen „Zunge“.

b) Die weiblichen Geschlechtsorgane:

Der Eierstock, welcher in frischem Zustande meist kugelig ist, liegt in der Mitte des Hinterleibs auf der Bauchseite und hat einen Durchmesser von 0,12—0,13 mm.

Das Receptaculum seminis, ein großer, quergestellter, elliptischer oder birnförmiger Sack ist nach hinten unten vom Eierstock gelegen. Sein Fundus erweitert sich nach rechts. Die Größe und Form des Sackes schwankt je nach der Menge des Inhaltes beträchtlich.

Der Laurersche Kanal ist ein feiner, langer Schlauch, welcher im Anfangsteil mit dem Receptaculum seminis im Zusammenhang steht. Er zieht auf der linken Seite des Receptaculum seminis und des Eierstocks ventralwärts, nähert sich dann, indem er sich rückwärts wendet, der Mittellinie und begibt sich allmählich nach dem Rücken, um sich hier auf der linken, dorsalen Seite des Eierstockes zu öffnen.

Die Dotterstöcke haben ihren Sitz in der hinteren Körperhälfte abwärts vom Eierstock, nahe der Rückenwand und auf der äußeren Seite des Darms; sie bestehen jederseits aus etwa 10 Acinis. Sie wenden sich als ein schlauchartiges Gebilde über die Rückenseite des Darmes und Hodens nach innen und verbinden sich mit der anderen in der Höhe des hinteren Endes des Receptaculum seminis zu einem dicken Ausführungsgang. Der rechte Ausführungsgang ist länger als der linke,



läuft längs des unteren Randes des Eierstocks nach links und vereinigt sich mit dem anderen zu einem kurzen, gemeinsamen Ausführungsgang, dessen Boden, sich etwas erweiternd, zum Dotterreservoir wird, während sein Endteil auf der linken, dorsalen Seite des Eierstocks sich mit dem Eileiter verbindet.

Der Eileiter, der seinen Ursprung von der Mitte der dorsalen Seite des Eierstockes nimmt, tritt an der linken Seite des letzteren mit dem Laurerschen Kanal in Verbindung, läuft dann, nachdem er sich mit dem gemeinsamen Dotterausführungsgang vereinigt hat, auf der linken Seite des Eierstocks ventralwärts, und geht am oberen Ende derselben mit einer nach rechts gerichteten Krümmung ins Ootyp über.

Die Schalendrüsen, ein Konglomerat von vielen Drüsen aus einfachen Zellen, befindet sich auf der linken Seite des Ovarium um den vorderen Teil des Eileiters herum. Der Uterus füllt als ein relativ dicker Schlauch den Zwischenraum zwischen den einzelnen Organen am Hinterleib abwärts vom Bauchsaugnapf aus. In der Regel umkreist er in querrer Richtung 3—4 mal den Tierkörper. Er erweitert sich auch ventral- und dorsalwärts und füllt sich mit Eiern. Dieselben sind in dem Uterusteil, der vor dem Eierstock gelegen ist, eigentümlich gelbbraun, in dem anderen Uterusteil aber, der hinter dem letzteren liegt, farblos und aus grobkörnigen Eizellen und Dotterzellen zusammengesetzt. Der Endabschnitt des Uterus ist sehr schmal, mit einer mäßig dicken Wandung versehen und kommuniziert mit dem Genitalsinus.

Außerdem sieht man zu beiden Seiten des Pharynx ein großes Ganglion.

In folgender Tabelle stelle ich die Größen der wichtigen Organe des Wurms im frischen und fixierten Zustande zum Vergleiche gegenüber:

	Mundsaugnapf	Pharynx	
	Querdurchmesser	Längsdurchmesser	Querdurchmesser
Frisch (in mm)	0,0818	0,0514	0,0485
In Balsam eingeschlossen (in mm)	(0,0864—0,0770)	(0,0524—0,0504)	(0,0520—0,045)
	0,0516	0,0326	0,0269
Zahl der gemessenen Würmer	(0,0624—0,0480)	(0,0360—0,0288)	(0,0355—0,0240)
	10	10	

NB. Der halbmondförmige Körper am vorderen inneren Rand des Bauchsaugnapfes weist an frischen Präparaten je nach dem Grade der Zusammenziehung große Schwankungen in der Größe auf. Meine Messungen an frischen Präparaten aber er-

Ueberblickt man die oben beschriebene Struktur des neuen Wurmes und vergleicht man diese mit derjenigen der bis jetzt bekannten Saugwürmer, so ähnelt er in der allgemeinen Struktur dem Heterophyes Cobbold; in den Beziehungen zwischen Bauchsaugnapf und Genitalnapf aber erinnert er, weil die beiden Tierarten hierin große Unterschiede darbieten, mehr an Tocotrema Looss oder Cryptocotyle Lühe. Jedoch ist der Genitalnapf-Bauchsaugnapfapparat unseres Wurmes auch eigenartig und unterscheidet sich von dem von Tocotrema oder Cryptocotyle; zudem ist er bedeutend seitlich, rechts gelegen. Hieraus darf man wohl mit Recht folgern, daß man für den Wurm eine eigene Gattung aufstellen muß. Daher hat Prof. Katsurada mit Zustimmung des zoologischen Institutes der Universität zu Tokyo die Gattung „Metagonimus“ neu gebildet und den Parasiten „Meta-

gonimus Yokogawai“ getauft. Katsurada beschreibt die charakteristischen Eigenschaften der neuen Gattung folgendermaßen:

Der Wurm besitzt im großen und ganzen die der Gattung *Heterophyes* zukommende Struktur und nähert sich dem *Tocotrema* Looss bloß in dem einem Punkte, daß das dem Bauchsaugnapf entsprechende, muskulöse Organ sich mit dem Genitalnapf vereinigt und den sogenannten Genitalnapf-Bauchsaugnapfapparat bildet. Indes liegt dieser auf der rechten Seite des Tierkörpers, dicht an der Innenseite des rechten Darmschenkels, und zwar an der Grenze zwischen dem vorderen und mittleren Drittel desselben, oder noch etwas tiefer. Der Wurm lebt im Darm von Menschen und von Säugetieren als Schmarotzer.

## 6. Die biologischen Eigenschaften des Wurmes.

Der Wurm bildet eine neue Species für sich, deren charakteristischer Wohnsitz der Dünndarm von Säugetieren ist. Er bewohnt mit Vorliebe den oberen und mittleren Teil des Jejunum, nur selten das Duodenum. Je näher man dem unteren Teil des Dünndarms kommt, desto spärlicher trifft man die Würmer an. Im Blinddarm findet man den Wurm nur in Ausnahmefällen und im Dickdarm nie. Im Verdauungskanal, außer dem Darin, in den Drüsen und deren Ausführungsgängen vermißt man ihn.

Was die Art und Weise betrifft, wie der Wurm in der Schleimhaut des Darmes schmarotzt, so dringt er, wenn er noch jung ist, tief in die letztere ein. Hierbei drängt er die Darmzotten, wie ein ins Wasser tauchender Schwimmer das Wasser auseinander, um in die *Membrana propria* einzuwandern und zu den Schleimhautmuskeln zu gelangen, mit denen er häufig einen rechten Winkel bildet. Manchmal gerät er in

Bauchsaugnapf		Ovarium	Hoden
Längsdurchmesser	Querdurchmesser	Durchmesser	Querdurchmesser
0,1302 (0,1368—0,1200)	0,0940 (0,108—0,0848)	0,1309 (0,1320—0,1200)	0,247 (0,280—0,210)
0,1017 (0,1292—0,0888)	0,0583 (0,06—0,0552)	0,0786 (0,0960—0,0672)	0,143 (0,1560—0,120)
10		10	10

gaben meist einen Längsdurchmesser von 0,034—0,022 mm und einen Querdurchmesser von 0,014—0,012 mm.

die Solitärdrüsen und zerstört die Drüsensubstanz mehr oder weniger. Bei den anderen Würmern, welche mit dem neuen Wurm nahe verwandt sind, habe ich konstatiert, daß sie sich tief in das submuköse Gewebe einbohren und nahe an der Muscularis entlang der Darmwand parallel der Längsachse derselben sitzen. Von unserem Wurm aber habe ich noch kein Exemplar gefunden, das in das submuköse Gewebe gewandert ist.

Die Larven des neuen Wurmes, die anfangs in der *Membrana propria* saßen, kehren mit dem Wachstum, 3—5 Tage nach der Fütterung, allmählich den Kopfteil nach der Schleimhaut um, oder sie bilden manchmal mit ihrem Körper, indem sie diesen in der Mitte beugen, eine Schlinge. Ich deute mir diesen Befund folgendermaßen: Die kleinen, sich lebhaft bewegenden Larven können, nachdem sie mit ihrem hervor-

gestreckten Kopfende in die Schleimhaut eingedrungen sind, das Kopfende nicht mehr zurückziehen, da die, den ganzen Körper bedeckenden, kurzen Stacheln sie daran verhindern. Infolgedessen muß der Hinterleib, dem Zuge des Kopfendes folgend, in die Schleimhaut hineinschlüpfen. Auf diese Weise gräbt sich die Larve allmählich in die Tiefe. Aber mit dem Wachstum der Larve wird deren Sitz in der Schleimhaut immer enger und die Nahrungsaufnahme immer schwieriger; sie ist nunmehr gezwungen, sich umzuwenden und wieder an die Schleimhautoberfläche zurückzukehren. Deshalb schmarotzen die völlig ausgewachsenen Würmer meist an der Schleimhaut; sie sind bei der Sektion als braune, punktförmige Körper leicht zu erkennen. Doch bleibt eine gewisse Anzahl von Würmern tief in der Membrana propria stecken und wandert hier herum. Aus diesem Grunde läßt sich ein gewisser Teil der Würmer sehr schwer abtreiben, während die Mehrzahl derselben durch Wurmmittel leicht abgeht.

### 7. Die Eier.

Auf den ersten Blick sind die Eier des neuen Wurmes denen des *Distomum spathulatum* sehr ähnlich. Doch kann man bei näherer morphologischer Betrachtung die beiden Eier ohne Schwierigkeiten auseinanderhalten. Die Eier des *Distomum spathulatum* sind eirund; ihr hinterer Teil ist im Vergleiche zu dem vorderen bedeutend spitzer. Der Rand der Mündungsstelle mündet etwas nach außen, ein Deckelchen befindet sich darin eingeklemmt. Die Eier des *Metagonimus* sind fast regelmäßig elliptisch, an beiden Polen in fast demselben Grade gewölbt; die Eischale ist relativ dick, doppelt konturiert und von gelblich-bräunlicher Farbe. Der Rand der Mündungsstelle befindet sich auf derselben Linie mit dem Deckelchen. Dasselbe ist etwas kleiner als bei den Eiern des *Distomum spathulatum*, seine Kontur ist nicht selten undeutlich. Die Eischale nimmt von dem vorderen nach dem hinteren Pol zu allmählich an Dicke zu und bildet an dem letzteren eine mehr oder weniger deutliche Verdickung oder ein Knötchen (s. Fig. 16). Diese Verdickung oder dieses Knötchen ist sehr verschieden von dem Stachel- oder hakenförmigen Fortsatz, den man an den meisten *Clonorchis sinensis* sehen kann, und an allen Eiern gut erkennbar. Die Innenfläche der Eischale ist mit einer deutlichen Schalenhaut bekleidet, worin der mit langen Wimpern besetzte Embryo sitzt. Die Enden des Embryo sind etwas ausgeprägter und zugespitzter als am Ei des *Distomum spathulatum*. Die Größe der Eier ist beinahe dieselbe wie beim *Clonorchis sinensis*; sie sind im frischen Zustande 0,028 (0,0275—0,030) mm lang und 0,016 (0,015—0,0168) mm breit.

### 8. Fälle, wo der Nachweis des Parasiten im menschlichen Körper gelungen ist.

#### A. Durch Finden der Eier und Abtreiben des Wurms.

Wie oben angegeben, sind die Eier des *Metagonimus* so charakteristisch, daß sie bei näherer Betrachtung leicht von den des *Distomum spathulatum* unterschieden werden können. Sie wurden im hiesigen Rotenkreuzhospital seit dem Frühling 1912 bereits bei 8 Patienten nachgewiesen. Ich habe unter meinen Kollegen und Kranken, die als an *Distomum spathulatum* leidend angesehen wurden, bei 6 Personen die Anwesenheit des *Metagonimus* konstatiert. Nach

Katsuradas Mitteilung waren 6 von seinen 9 Gehilfen im Institut Träger desselben. Die von mir selbst beobachteten Fälle, sowie die Kranken vom Rotenkreuzhospital klagten über mehr oder weniger erhebliche Darmstörungen. Da sie aber meist *Distomum spathulatum* und Ankylostomen als Komplikationen hatten, und da in den subtropischen Zonen, wie auf Formosa, die Darmfunktion immer etwas leidet, so kann man hier den neuen Parasiten allein für die Darmstörungen nicht verantwortlich machen. An einem Kranken, der an hartnäckigen Dünndarmdiarrhöen litt, in dessen Stühlen auffallend viele Eier des *Metagonimus* gefunden wurden, versuchte ich, die Würmer abzutreiben. Die Kur gelang. Es gingen ungefähr 4000 vollentwickelte Würmer ab, und die Symptome besserten sich nach und nach. Ich gebe im folgenden die Krankengeschichte dieses interessanten Falles im Auszuge wieder:

N. N. 28-jähriger Polizeidiener.

**Anamnese:**

Eltern gesund. Ohne Geschwister. Pat. war von Kindheit an gesund, nie lange bettlägerig, außer daß er in seinem 24. Lebensjahre an Typhus erkrankte und in einem Hospital behandelt wurde. Ferner hatte er leichte Kake (Beriberi), Malaria und Tripper. Seit Februar vorigen Jahres Appetitsmangel, Vollgefühl und dumpfe Schmerzen in der Magengegend. Diese Schmerzen stellen sich gleich nach dem Essen ein und verschwinden nach etwa 1 Stunde. Seit Ende März 3—4mal täglich weiche Stühle, die sich bald in wässrige Stühle verwandelten, die gelb, mit viel Schaum untermischt, aber frei von Schleim waren und über 10mal täglich erfolgten.

Durch ärztliche Behandlung besserten sich die Symptome etwas, aber der Appetit liegt immer noch darnieder, der Stuhlgang ist unregelmäßig, und Pat. klagt über geringe Leibschmerzen. Aufnahme am 7. April 1912.

**Status praesens:**

Körperbau und Ernährung gut. Zunge rein, Rachenschleimhaut ohne nennenswerte Veränderungen. An der Brust perkutorisch und auskultatorisch nichts Abnormes nachweisbar. Herzgrenzen und Herzgeräusche normal. Leber und Milz nicht fühlbar. Leichter Druckschmerz im Unterleib, besonders in der linken Fossa iliaca.

Die Blutuntersuchung am 12. April ergab 5600—6500 Leukocyten, 4—5 Proz. Eosinophile Zellen, und die am 26. 4187 Leukocyten und 7 Proz. Eosinophile Zellen.

**Wurmabtreibung:**

Mit Rücksicht darauf, daß die durch die Abtreibungskur abgehenden Würmer wegen ihrer Kleinheit schwer aufzufangen sein würden, gab ich dem Pat. zur Vorbereitung für die Kur Milch, Eier und Brot, um den Darminhalt nach Möglichkeit zu verringern. Am Vorabend der Kur verordnete ich eine geringe Dose Abführmittel und am folgenden Morgen eine Mischung von Thymol und Naphthalin, worauf eine Dose Rizinusöl folgte. Es erfolgen dann etwa 7mal wässrige Stühle. Diese wurden mit Wasser begossen, um sie vom Schleim und anderen Rückständen des Darminhaltes zu befreien. Darauf wurde der Bodensatz in eine Schale gebracht, und es wurden unter Benutzung des durchfallenden Lichtes etwa 3000 Würmer gesammelt. Als ich die Stühle nach mehreren Tagen wieder untersuchte, fand ich noch reichliche Eier des Wurmes. Eine Dosis Santonin, die ich versuchsweise verordnet hatte, blieb gänzlich erfolglos. Deshalb griff ich wieder zu Thymol und Naphthalin, worauf ungefähr 600 Würmer abgingen. Bei der Untersuchung der Stühle nach mehreren Tagen fand ich die Eier des Wurmes in geringer Anzahl. Als Pat. die Kur nicht gut vertrug und etwas herunterkam, mußte ich sie unterbrechen. Er wurde, nachdem er sich einige Tage ruhig verhalten und von den Darmsymptomen erholt hatte, am 7. Mai 1912 mit dem Verbot, Fische roh zu genießen, entlassen.

Die Würmer, die ich durch die oben beschriebene Abtreibungskur bekam, decken sich im Bau vollständig mit denjenigen, welche ich im Dezember 1911 entdeckte und über welche ich dann berichtete. Somit ist der sichere Beweis erbracht, daß sie im menschlichen Körper als Schmarotzer leben. Sie wurden im Mai auf der Versammlung der Medizinischen Gesellschaft von Formosa demonstriert.

### B. Durch Sektion.

Der Fall betraf die Leiche eines Mannes, der an Cholera verstorben war. Die Sektion wurde nach dem letzten Willen des Kranken gemacht. An dem Darm fand man akut entzündliche Veränderungen, besonders durch echte Cholera bedingte, und tuberkulöse Geschwüre, sonst aber nichts Abnormes. Da der Darm von 8 Uhr abends bei Lampenlicht untersucht wurde, so konnte ich die Parasiten in der Darmschleimhaut nicht mit bloßen Augen erkennen. Erst später gelang es mir, durch mikroskopische Untersuchung der Darmwand die Würmer ausfindig zu machen. An in Formalin aufbewahrten Präparaten konnte ich nachweisen, daß sie in den Darmzotten stecken und im oberen und mittleren Teil des Jejunum am zahlreichsten anzutreffen sind, wie es bei den Versuchstieren der Fall ist.

#### Mikroskopischer Befund der Darmwand.

Die Schleimhaut des Dünndarms zeigt durch Cholerabacillen hervorgerufene, akut entzündliche Veränderungen, sowie tuberkulöse Geschwüre. In der Schleimhaut des oberen und mittleren Teiles des Jejunum, besonders in der Membrana propria, nisten nicht wenige Parasiten. In der Umgebung der Tierkörper kann man auch ausgeprägte entzündliche Erscheinungen nachweisen, welche wahrscheinlich durch Cholerabacillen verursacht sind, wie an den anderen Teilen des Dünndarms.

Dieser Fall lehrt uns, daß der Wurm auch im menschlichen Darm, wie im tierischen, nicht bloß in den Darmzotten lebt, sondern sich auch tief in die Membrana propria einbohrt.

### 9. Klinische und ätiologische Bedeutung des Wurms.

Nach dem obigen steht die Tatsache schon fest, daß unser Wurm im menschlichen Körper lebt, und daraus ergibt sich die Notwendigkeit, nach seiner klinischen und ätiologischen Bedeutung zu forschen.

Zieht man die Ergebnisse der Tierversuche und des Sektionsbefundes in Betracht, so wandern die Würmer nicht nur an der Schleimhautoberfläche herum, sondern sie dringen auch zum Teil tief in die Membrana propria, und wenn sie in die Solitärdrüsen geraten, so veröden sie die Drüsensubstanz in relativ großer Ausdehnung. Hieraus kann man wohl schließen, daß die Würmer nicht ganz harmloser Natur sind. Bei dem oben genannten Polizeidiener mit seinen vielen Parasiten im Körper dürften die Würmer wohl die wichtigste Ursache des chronischen Darmkatarrhes gewesen sein. Weil sie klein sind, so werden sie dem Wirt nicht allzu große mechanische Störungen verursachen. Weil sie aber über den ganzen Körper mit starken Stacheln ausgestattet, nicht nur die Schleimhautoberfläche bewohnen, sondern auch tief in die Membrana propria invadieren und einen beständigen Reiz auf diese ausüben, so werden sie wenigstens mit dazu beitragen, die Entzündung der Darmschleimhaut hervorzurufen, resp. den bereits bestehenden Katarrh ungünstig zu beeinflussen.

Ferner darf man in diagnostischer Hinsicht die Vermutung aussprechen, daß bei einem Teil der Krankheit, die als von den viel verbreiteten Clonorchiasis verursacht angesehen wurde, die Diagnose auf einem Irrtum beruhte, indem die Eier des Metagonimus als die des Distomum spathulatum gedeutet werden. Demnach müßte die geographische Verbreitung und die Häufigkeit der Clonorchiasis eine Berichtigung erfahren.

### 10. Widerstandsfähigkeit der Larven.

Zu wissen, wie sich die Larven in der Kapsel Schädlichkeiten physikalischer und chemischer Natur gegenüber verhalten, ist nicht bloß für die Prophylaxe, sondern auch für die Erforschung der Art und Weise, wie die Larven aus der Kapsel herausschlüpfen, nachdem sie in den Verdauungskanal des Wirtes gelangt sind, von Wichtigkeit.

Die Kapselwand, eine dünne, homogene Membran, gewöhnlich 0,0049 mm dick, ist sehr widerstandsfähig gegen äußere Schädlichkeiten und wird auch von dem Magensaft fast gar nicht angegriffen. Meine Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Kapsel gegenüber der gewöhnlichen Zubereitungsweise von Forellen und dem Verdauungsaft führten zu folgendem Resultat:

#### 1. Widerstandskraft gegen Wärme:

a) Fütterungsversuche mit Forellen, die nach der üblichen Methode gebraten wurden, fielen negativ aus.

b) Frische Forellen, ungeteilt und unausgenommen, wurden 15 Minuten lang einer Hitze von 70° ausgesetzt und 3 Versuchshunden gefüttert. Nur an einem der Hunde konnten die Parasiten in geringer Zahl nachgewiesen werden.

#### 2. Widerstandskraft gegen Säuren:

##### a) Salzsäure:

Schuppen und Muskelfasern von Forellen mit Larven wurden isoliert, in eine Salzsäurelösung unter 0,3 Proz. eingelegt und nach 6 Stunden mikroskopisch untersucht. Es konnten noch lebende Larven nachgewiesen werden.

b) Mit Larven behaftete Forellenschuppen lagen im Magensaft eines Menschen oder Hundes 3 Stunden lang in einem Bratofen; bei der mikroskopischen Untersuchung erschienen die Kapseln etwas dünner, es kam aber keine Larve zum Ausschlüpfen.

##### c) Essigsäure:

In Scheiben geschnitten, rohe Forellen oder deren Schuppen wurden in Speiseessig eingelegt. Nach 1 Stunde bewegten sich die Larven bei der mikroskopischen Untersuchung noch lebhaft, nach 2 Stunden jedoch waren sie meist bewegungslos, so daß es schwer war, zu entscheiden, ob sie noch am Leben waren oder nicht. Fütterungsversuche an zwei kleinen Hunden zur Lösung dieser Frage fielen positiv aus. Versuche mit einer 4-proz. Essigsäurelösung führten zu fast demselben Ergebnis wie die mit Speiseessig.

#### 3. Japanische Sauce (Shoyu):

An rohen in Scheiben geschnittenen Forellen oder an Forellenschuppen, welche beide 6 Stunden in japanischer Sauce gelegen hatten, konnte man noch lebende Larven finden.

Aus den obigen Versuchen erhellt, daß die Larven äußerst widerstandsfähig sind und bei der üblichen Zubereitungsweise der Forellen häufig Gelegenheit haben, in den menschlichen Körper zu gelangen, da diese in Scheiben geschnitten, roh oder in Essig eingelegt oder ungenügend gekocht genossen werden.

### 11. Geographische Verbreitung des Wurms.

Ich entdeckte den Wurm im Winter 1911 und machte im April 1912 eine kurze, vorläufige Mitteilung über die Entdeckung. Bald folgten

Berichte über die Entdeckung des Wurms in verschiedenen Distrikten im Innern Japans. Ich ahnte zwar schon zur Zeit meiner Entdeckung, daß der Wurm auch im Innern Japans zu finden sei, aber an eine so starke Verbreitung konnte ich gar nicht denken. Auf Grund der bis jetzt vorliegenden Literatur und einiger Privatberichte scheint der Wurm in Tschugoku (Mitteljapan), Shikoku und Kyushu (Süd- und Westjapan) relativ häufig zu sein. Nur aus dem nordöstlichen Teile Japans liegt bis heute keine Mitteilung über die Entdeckung des Wurms vor. Es ist aber unglaublich, daß dieser Teil des Inselreiches allein von dem Wurm verschont bleibt. Vielleicht mögen die klimatischen Verhältnisse dort auf die Entwicklung und Vermehrung der Parasiten hindernd einwirken, so daß etwas weniger Menschen von ihnen befallen werden als in den anderen Gegenden. Meines Erachtens muß der Wurm, der sehr innige Beziehungen zur Forellenart *Pl. altiv.* hat, mit dieser in Japan, Formosa und Korea überall zahlreich vorkommen.

## 12. Zusammenfassung.

1) Der Wurm ist morphologisch *Heterophyes* und *Tocotrema* ähnlich, ist ihnen aber nicht gleich. Prof. Dr. Katsurada sah in ihm eine neue Art und benannte ihn *Metagonimus Yokogawai*.

2) Die genannten Parasiten sitzen im Darne, besonders im oberen Teil des Dünndarmes von Menschen und Säugetieren, und zwar nicht nur auf der Oberfläche der Schleimhaut, sondern sie dringen mitunter auch tief in die *Membrana propria* ein.

3) Die Larven parasitieren hauptsächlich in *Plecoglossus altivelis*, aber nur selten in *Crassius* und *Cyprinus*.

4) Die Cyste der Larven ist je nach dem Sitz kugelig oder elliptisch.

5) Die jungen Würmchen unterliegen nicht dem Einfluß des Magensaftes, treten von den Cysten im Duodenum heraus und entwickeln sich im Dünndarm.

6) Die Entwicklung dieses Wurms ist eine auffallend schnelle. Von dem Moment an, wo die Larve in den Darm des definitiven Wirtes gelangt, bis zur Zeit des ersten Eierlegens, dauert es nur 7—10 Tage.

7) Das Ei ist fast elliptisch, seine beiden Pole haben beinahe dieselbe Krümmung. Die Schale ist dick und gelbbraun. Der hintere Pol hat eine mehr oder weniger ausgeprägte Verdickung oder ein Knötchen, und der vordere Pol ein Deckelchen.

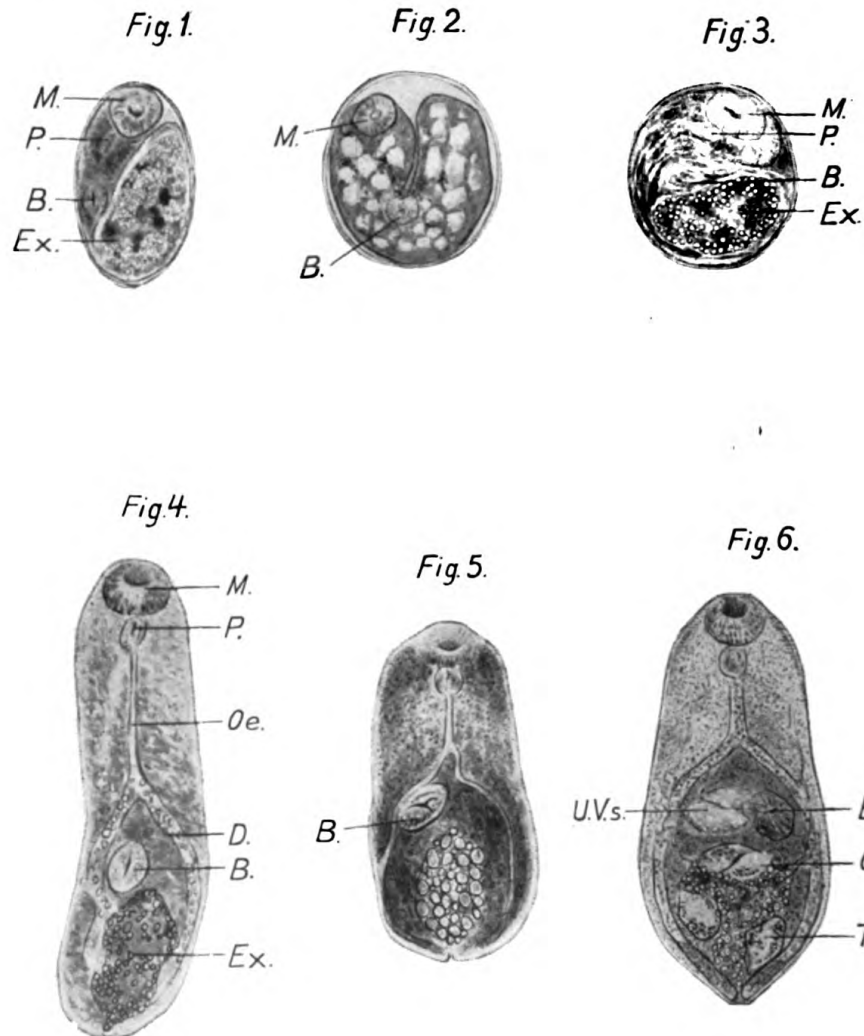
8) Der Schmarotzer scheint keinen erheblichen Schaden anzurichten; wenn er aber in Menge schmarotzt, so verursacht er wohl zuweilen Darmkatarrh oder hilft neben anderen Ursachen denselben veranlassen oder verschlimmert den bereits bestehenden.

9) Thymol und Naphthalin haben eine antihelminthische Wirkung gegen den Wurm, Santonin aber nicht.

10) Diese Erkrankung trifft man am häufigsten im Stromgebiete eines Flusses und in gebirgigen Gegenden, welche die Quellengebiete von Flüssen darstellen. Die Ursache ist wohl der Einnahme von ungekochten Forellen zuzuschreiben.







Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Fig. 7.

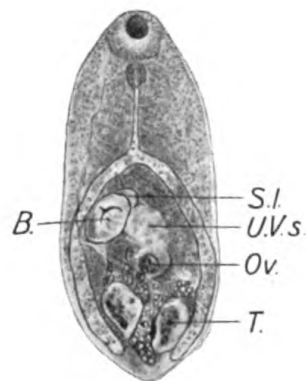


Fig. 8.

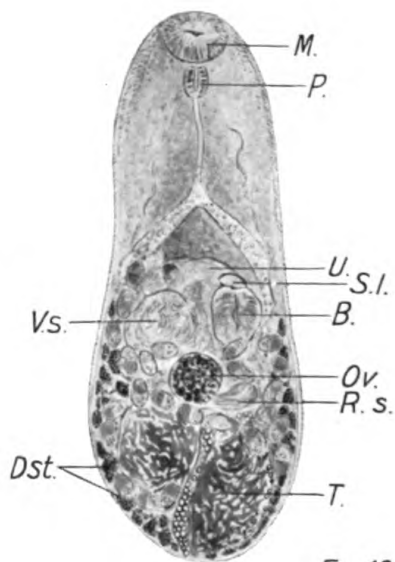


Fig. 9.

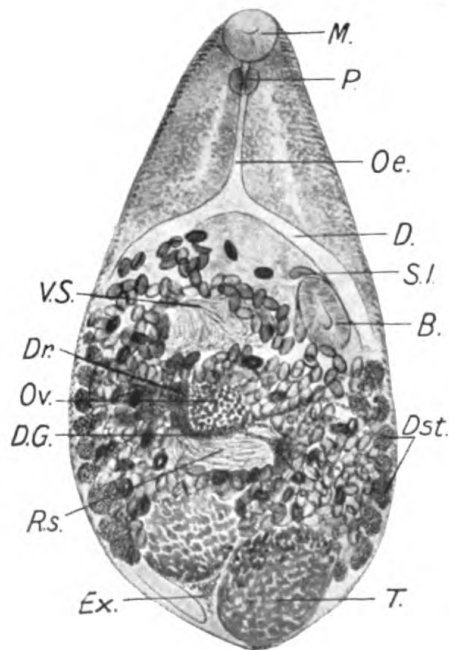
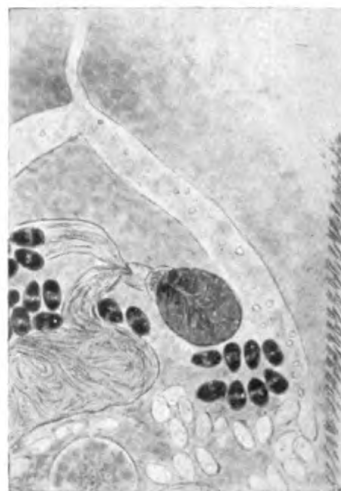
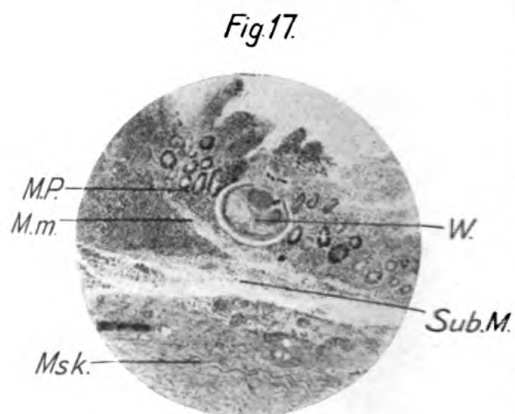
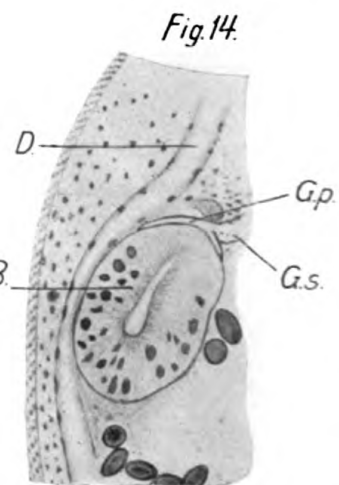
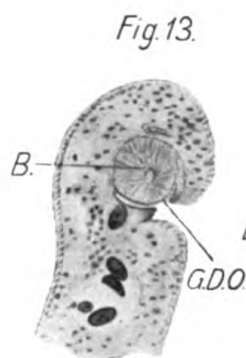
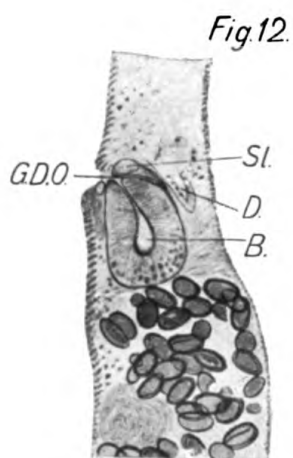
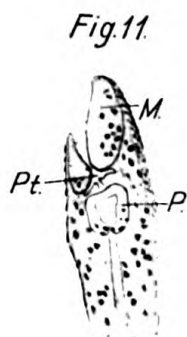


Fig. 10.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.





11) Die Larven können durch Erhitzen über 100° C getötet werden; aber sie widerstehen dem Kochen bei niedriger Temperatur, dem Essig und Shoyu (japanischer Sauce).|

12) Die Prophylaxe besteht im Verbote des Genusses von rohen Süßwasserfischen, spez. Forellen.

Zum Schlusse spreche ich Herrn Direktor Takaki, Herrn Okada, dem Leiter der hygienischen Abteilung, Herrn Prof. Dr. Horiuchi, Herrn Prof. Dr. Inogaki, dem Direktor des Gouvernmenthospitals, sowie meinen Herren Kollegen für die Unterstützung bei meiner Arbeit, Herrn Prof. Dr. Katsurada für die liebevolle Anleitung und Anregung, Herrn Prof. Matsushita, der mich mit der Literatur über Parasiten bekannt machte, und Herrn Goto, Prof. der Zoologie an der Universität Tokyo, der mir in lebenswürdiger Weise auf indirektem Wege mit Rat half, meinen herzlichsten Dank aus. Herrn Assistenten Koga, der mir bei meiner Arbeit mit großem Eifer beistand, bin ich ebenfalls sehr verbunden.

Formosa, im Juni 1913.

#### Nachtrag.

Nach der persönlichen Nachricht des Herrn Prof. F. Katsurada ist unser Parasit in den verschiedenen Gegenden Coreas sehr stark verbreitet. Er machte vom April bis zum Juni dieses Jahres eine Forschungsreise auf Corea und fand encystierte Cercarien unseres Parasiten bei den sehr zahlreichen Arten von Süßwasserfischen. Sogar wies er die Existenz der Eier dieses Parasiten im Kote der Einwohner in Corea nach.

Formosa, im Juli 1913.

#### Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1. Encystierte Cercarie an der Kieme des *Plecoglossus altivelis*.
- Fig. 2. Encystierte ausgebildete Cercarie an der frischen Schuppe.
- Fig. 3. Desgleichen.
- Fig. 4. Frei gewordenen junges Würmchen.
- Fig. 5. 3 Stunden altes junges Würmchen.
- Fig. 6. 22 Stunden altes junges Würmchen.
- Fig. 7. 76 Stunden altes junges Würmchen.
- Fig. 8. 120 Stunden altes junges Würmchen.
- Fig. 9. Erwachsenes Tier (fixiertes Präparat); Wirt: Hund.
- Fig. 10. Genital-Bauchsaugnapfapparat des erwachsenen Tieres. Frischpräparat.
- Fig. 11. Längsschnitt durch ein *Metagonimus*-Kopftende. Häm.-Eosinfärbung.
- Fig. 12. Längsschnitt durch eine *Metagonimus*-Bauchsaugnapfgegend.
- Fig. 13. Querschnitt durch eine *Metagonimus*-Bauchsaugnapfgegend.
- Fig. 14. Flächenschnitt durch obengenannte Gegend.
- Fig. 15. Schrägschnitt durch obengenannte Gegend.
- Fig. 16. Eier.
- Fig. 17. Erwachsenes Tier in der menschlichen Darmwand.

*M* Mundsaugnapf; *P* Pharynx; *Oe* Oesophagus; *D* Darm; *B* Bauchsaugnapf; *T* Hoden; *Ov* Ovarium; *Rs* Receptaculum seminis; *Vs* Vesicula seminalis; *Ds* Dotterstock; *D.G* Dotterstockgang; *D.R* Dotterblase; *Ex* Exkretionsblase; *Exk* Exkretionskanal; *G.S* Aeußere Oeffnung des Genital-Bauchsaugnapfapparates; *S.I* halbmondförmiger Körper; *G.s* Genitalraum; *U.t* Uterus; *R.p* Prostatagegend; *C.e* Vas efferens; *M.p* Membrana propria; *M.m* Musc. mucosa; *Sub.M* Submucosa; *M* Muskelschicht.

*Nachdruck verboten.*

## Weitere Versuche mit von Behrings Bovovaccin. II. Versuche an gegen natürliche Tuberkuloseinfektion geschützten Rindern.

Von

**Gustaf Regnér,**Regimentsveterinär, Vortragender in Tuberkuloseangelegenheiten  
bei der Kgl. landwirtschaftlichen Direktion (Stockholm),

und

**Olof Stenström,**

Staatlicher Tuberkulosekonsulent.

Nach einer vorhergehenden Versuchsreihe mit Bovovaccin<sup>1)</sup>, wobei Rinder, die nicht gegen natürliche Tuberkuloseinfektion geschützt worden waren, das Versuchsmaterial abgaben, kamen wir unter anderem zu dem Ergebnis, daß Bovovaccination ohne unterstützende hygienische Maßregeln (Isolierung, Sterilisierung der Kälbermilch usw.) nicht als Kampfmittel gegen die Rindertuberkulose empfohlen werden könne, und sprachen gleichzeitig die Hoffnung aus, daß eine im Herbst 1906 begonnene neue Versuchsreihe den Nachweis würde erbringen können, ob Bovovaccination mit solchen Maßregeln ein befriedigendes Resultat ergäbe.

Wie aus unserem Bericht über die erste Versuchsreihe hervorgeht, impften wir bereits damals innerhalb eines gegen Tuberkulose geschützten Teiles eines Viehbestandes — Versuchsgut VII —, berichteten aber nicht in jenem Zusammenhange über diese Impfungen, da wir sie als mehr zu der späteren Versuchsreihe gehörig ansahen. An diese schlossen sich außerdem die älteren Versuchsgüter I, III, IV und IX. Da es sich indessen als unmöglich erwies, auf den beiden letzteren die Kälber wirksam gegen Infektion durch die Milch zu schützen und sie hinreichend lange von dem infizierten Teil des Stallbestandes isoliert zu halten, mußten die Versuche hier sehr bald eingestellt werden. Für diese verfügten wir jedoch über weitere 4 Güter, nämlich XI, XIII, XIV und XV, so daß also 7 Versuchsgüter an der Versuchsreihe, über die im Nachstehenden berichtet werden soll, teilgenommen haben.

Es dürfte besonders hervorzuheben sein, daß wir bei diesen unseren Versuchen stets die praktischen Verhältnisse im Auge gehabt haben, so wie sie sich auf den verschiedenen Gütern gestaltet haben. So glaubten wir, unsere Eingriffe in den Stallbetrieb darauf beschränken zu müssen, daß wir als Bedingung für den Genuß der unentgeltlichen Impfungen aufstellten, daß die Versuchstiere vor Tuberkuloseinfektion während der Zeit von der Geburt an bis 3 Monate nach der Injektion der zweiten Impfdosis (5 IE.) geschützt werden sollten, wobei letzterer Zeitraum aus dem Grunde gewählt war, weil die Immunität erst danach als eingetreten angesehen wird (Römer u. a.): Den Vieheigentümern überließen wir es folglich, zu bestimmen, ob sie unmittelbar nach der Impfperiode, 6 Monate von der Injektion der ersten Impfdosis (1 IE.) an gerechnet, die Versuchstiere in einen infizierten Stall einstellen oder

1) Regnér u. Stenström, Försök med von Behrings bovovaccin. (Meddel. från Kungl. Lantbruksstyrelsen. 1908. No. 140; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909. H. 5.)

damit warten wollten, bis dies aus Betriebsrücksichten geschehen würde. Wie aus dem Folgenden hervorgeht, wählten die Vieheigentümer der Regel nach das letztere, so daß also die Verbringung der Tiere aus dem einen Stall in den anderen ohne Rücksicht auf die Versuche vorgenommen wurde.

Veränderungen hinsichtlich der Ausführung der Impfungen sind nicht getroffen worden. Da, wie wir früher hervorgehoben haben, das Bovovaccin intravenös dieselbe Wirkung auf ein tuberkulöses Rind hat wie das Tuberkulin, so haben wir von den Versuchen jedes Tier ausgeschlossen, das unserer Ansicht nach sicher nach der Injektion von 1 IE. reagiert hatte. Was dagegen die Tuberkulinproben und die Beurteilung ihrer Resultate betrifft, so sind wir in der Weise verfahren, wie es hierzulande seit 1898 gebräuchlich gewesen ist. Wir haben also eine Vortemperatur unmittelbar vor der Injektion des Tuberkulins gemessen und die Temperaturmessungen 8—9 Stunden nach der Injektion mit 2-stündigen Zwischenzeiten begonnen und mindestens 6 oder noch mehr Temperaturmessungen ausgeführt, wenn solches erforderlich gewesen ist. Temperaturen bis 39,5 einschließlich sind als normal betrachtet worden, solche zwischen 39,5 und 40 als zweifelhaft und von 40 einschließlich an als typische Reaktionstemperaturen; doch haben wir mit einer höheren Grenze der Normaltemperatur bei jungen Kälbern gerechnet, nämlich mit 40 und einigen Zehntel Graden darüber.

Unter Impfperiode verstehen wir im folgenden die Zeit zwischen der Injektion von 1 IE. und dem Eintritt der Immunität, d. h. insgesamt 6 Monate, unter Immunitätsperiode dagegen den unmittelbar auf die Impfperiode folgenden Zeitraum von ungefähr einem Jahre (Römer u. a.).

Wir gehen nunmehr zu einer Beschreibung der Impfversuche über.

#### **A. Die Versuchstiere nur während der Jungviehzeit gegen Tuberkuloseinfektion geschützt.**

##### **Versuchsgut I.**

Betreffs der Tuberkuloseverhältnisse auf diesem Gute verweisen wir auf den Bericht über die erste Versuchsreihe.

Ein besonderer Kälberstall wurde in einem Gebäude eingerichtet, das vorher zur Schweineaufzucht verwendet worden war. Nach sorgfältiger Reinigung und Desinfektion wurde ein Zementfußboden eingelegt und hölzerne Verschlüge wurden aufgestellt. Der Stall lag neben dem Rindviehstall, von diesem nur durch einen einige Meter breiten Fahrweg geschieden.

Die Kälber erhielten drei Mahlzeiten von Rohmilch, danach aber in der Molkerei mit Dampf gekochte Milch. Der Kälberwärter hatte indessen auch die Ochsen zu füttern.

Im Kälberstalle verblieben die Versuchstiere so lange, wie der Raum es zuließ, worauf sie nach zwei Vorwerken, K. und L., verbracht wurden, woselbst sie blieben, bis die Zeit des Kalbens für sie herangekommen war, zu welchem Zeitpunkt sie nach dem Hauptstall gebracht wurden. Schon auf den Vorwerken kamen sie mit tuberkulösen Tieren in Berührung. Die Versuchstiere 473—625 sowie 218 — die Impftiere haben in den Versuchen ungerade, die Kontrolltiere gerade Nummern — wurden auf die Vorwerke im Herbst 1907, die übrigen bis 993 einschließlich im Nachsommer 1908, der Rest nach und nach dahin gebracht; doch dürfte stets vorher die von v. Behring vorgeschriebene Isolierungszeit (= die Impfperiode) abgelaufen gewesen sein.



Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am						Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	31. 10. 07	31. 1. 08	11. 1. 09	14. 10. 09	14. 4. 10	6. 4. 11	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung								
471	1. 8. 06	38,6	41,2	38,6	41,2	—	R.	—	—	—	—	
473	3. 8. "	38,7	41,0	38,9	41,0	—	R.	—	—	—	—	
475	30. 8. "	39,0	40,8	38,8	40,9	—	R.	—	—	—	—	
477	12. 9. "	39,4	41,4	38,7	41,1	—	R.	—	—	—	—	
479	5. 10. "	39,0	39,2	38,6	40,8	F.	—	R.	—	—	—	
481	5. 10. "	38,9	39,2	38,5	40,4	F.	—	R.	—	—	—	
483	12. 10. "	39,0	39,8	38,6	40,5	F.	—	R.	—	—	—	
485	25. 10. "	39,1	39,3	38,7	40,6	F.	—	R.	—	—	—	11. 9. 10: T.
487	17. 11. "	39,1	39,1	38,8	40,7	F.	—	R.	—	—	—	
489	24. 11. "	38,7	38,7	39,2	40,9	F.	—	R.	—	—	—	
617	29. 11. "	38,6	38,8	38,2	40,2	F.	—	R.	—	—	—	
619	12. 12. "	38,5	39,3	38,5	39,8	F.	—	—	—	—	—	26. 5. 08: T.-frei
621	25. 12. "	38,7	39,6	38,4	39,6	F.	—	R.	—	—	—	
623	4. 1. 07	38,8	39,1	38,6	40,4	F.	—	R.	—	—	—	
625	28. 1. "	39,2	39,1	38,9	40,9	F.	—	R.	—	—	—	
789	26. 4. "	38,5	39,5	38,6	38,4	—	—	F.	F.	F.	—	
791	3. 6. "	39,0	40,7	—	—	—	—	—	—	—	—	
793	9. 10. "	39,4	40,0	38,6	40,0	—	—	R.	—	—	—	
795	25. 9. "	39,4	39,7	39,0	39,2	—	—	F.	F.	F.	F.	
797	26. 6. "	39,3	40,0	38,8	39,2	—	—	F.	R.	—	—	
799	9. 10. "	38,9	39,8	38,9	39,0	—	—	F.	F.	F.	R.	
801	17. 10. "	39,4	39,3	38,7	39,7	—	—	F.	R.	—	—	
803	2. 7. "	39,1	40,3	38,5	39,8	—	—	F.	F.	F.	—	26. 11. 10: T.
805	13. 6. "	38,9	39,5	38,6	39,0	—	—	R.	—	—	—	
915	26. 10. "	38,8	39,4	38,8	39,7	—	—	—	R.	—	—	
917	5. 11. "	39,0	39,2	38,9	40,5	—	—	—	R.	—	—	
919	9. 12. "	38,9	39,5	38,8	41,2	—	—	—	F.	F.	—	26. 11. 10: T.-frei
921	12. 12. "	38,3	39,7	38,8	40,6	—	—	—	F.	F.	—	11. 9. 10: T.-frei

Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am					Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	14. 10. 09	14. 4. 10	6. 4. 11	5. 10. 11	6. 6. 12	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung							
923	4. 1. 08	39,0	40,9	—	—	—	—	—	—	—	
925	1. 11. 07	39,0	39,5	—	—	—	—	—	—	—	
927	13. 12. "	38,9	39,2	39,0	39,7	—	—	—	—	—	
929	27. 1. 08	38,9	39,0	38,9	40,8	F.	F.	R.	—	—	
981	29. 1. "	38,9	39,0	—	—	—	—	—	—	—	
983	10. 2. "	39,1	39,4	39,1	40,3	F.	F.	F.	F.	—	
985	24. 2. "	38,4	39,3	39,7	40,5	R.	—	—	—	—	
987	29. 2. "	38,9	39,3	39,8	41,1	F.	F.	F.	—	—	
989	7. 3. "	38,5	39,3	39,8	40,9	F.	F.	F.	F.	F.	
991	17. 3. "	38,3	39,1	39,6	40,6	F.	F.	F.	F.	F.	
993	24. 3. "	38,7	39,4	39,5	40,2	F.	F.	F.	F.	F.	
995	23. 4. "	38,9	39,4	39,6	40,3	R.	—	—	—	—	
017	15. 5. "	39,5	40,0	39,0	41,1	F.	F.	R.	—	—	
019	18. 5. "	39,5	39,4	38,7	40,6	F.	—	—	—	—	17. 2. 10: T.-frei
021	22. 5. "	39,6	39,7	38,9	40,4	F.	F.	F.	F.	F.	
023	6. "	39,6	39,8	38,9	40,5	F.	F.	F.	F.	—	

Impf.-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am					Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	14. 10. 09	14. 4. 10	6. 4. 11	5. 10. 11	6. 6. 12	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung							
025	25. 6. 08	39,5	39,6	38,6	40,6	F.	F.	F.	F.	—	18. 7. 10: T.
027	29. 6. "	39,4	39,5	38,8	41,2	R.	—	—	—	—	
029	3. 6. "	39,5	40,6	—	—	—	—	—	—	—	
0163	20. 8. "	38,4	39,3	38,5	40,6	—	F.	F.	F.	F.	
0165	22. 9. "	39,0	40,2	39,1	41,4	—	R.	—	—	—	
0167	26. 9. "	39,1	40,1	39,1	40,3	—	R.	—	—	—	
0237	18. 10. "	39,0	39,6	39,1	40,8	—	F.	F.	F.	F.	
0239	30. 10. "	38,9	39,8	39,5	40,8	—	F.	—	—	—	
0241	17. 11. "	38,6	39,5	39,4	40,4	—	F.	F.	—	—	
0243	11. 12. "	38,9	39,6	38,8	40,5	—	R.	—	—	—	
0291	1. 3. 09	38,4	39,6	38,6	40,9	—	F.	F.	F.	F.	
0293	1. 2. "	38,9	39,0	38,6	40,9	—	R.	—	—	—	
0295	6. 2. "	40,0	41,2	—	—	—	—	—	—	—	
0297	26. 2. "	38,5	39,5	38,9	40,8	—	F.	F.	F.	—	
0299	12. 1. "	38,8	39,5	39,4	40,6	—	F.	F.	F.	—	

Impf.-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am			Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	6. 4. 11	5. 10. 11	6. 6. 12	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung					
0311	26. 3. 09	38,8	39,6	39,5	41,3	—	R.	—	27. 6. 10: T.-frei
0313	14. 4. "	38,9	39,8	38,6	40,6	—	R.	—	
0315	2. 5. "	39,0	39,5	39,1	40,2	—	F.	—	
0317	21. 5. "	39,0	39,5	39,5	41,1	—	R.	—	
0319	19. 6. "	39,4	40,0	39,5	40,6	—	F.	F.	
0331	9. 7. "	39,2	39,6	38,6	41,8	F.	F.	—	
0333	19. 8. "	39,1	39,5	39,4	42,0	F.	F.	F.	
0335	30. 8. "	39,0	39,6	39,1	41,5	R.	—	—	
0337	31. 8. "	39,1	39,4	39,1	40,2	F.	F.	F.	
0339	4. 9. "	38,6	39,6	39,0	41,1	—	—	—	
0341	8. 9. "	39,2	39,5	39,1	40,4	F.	F.	—	
0343	13. 9. "	39,0	40,9	—	—	—	—	—	
0345	13. 9. "	38,5	39,5	38,7	40,5	F.	F.	F.	
0347	14. 9. "	39,0	40,9	—	—	—	—	—	
0349	16. 9. "	39,9	39,5	38,8	40,5	F.	F.	F.	
0381	8. 11. "	38,6	39,8	38,9	39,8	F.	F.	F.	
0383	12. 11. "	39,2	40,0	38,4	41,3	F.	F.	F.	
0385	29. 11. "	39,1	40,2	38,8	40,5	F.	F.	F.	
0387	4. 12. "	39,0	39,6	39,1	40,6	F.	F.	—	
0389	4. 12. "	38,9	39,9	38,9	41,2	F.	F.	F.	
0391	4. 1. 10	39,0	40,0	39,1	41,2	R.	—	—	
0393	7. 1. "	39,4	40,3	39,6	40,6	F.	F.	F.	
0411	7. 2. "	39,5	39,8	39,4	41,8	R.	—	—	
0413	22. 2. "	39,4	41,2	—	—	—	—	—	
0415	10. 3. "	39,3	39,9	39,4	40,5	R.	—	—	
0417	21. 3. "	39,1	40,2	39,9	41,2	R.	—	—	
0419	21. 3. "	39,3	40,0	39,8	41,8	R.	—	—	

## Kontrolltiere.

Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am							Obduktion
		31. 10. 07	11. 1. 09	14. 10. 09	14. 4. 10	6. 4. 11	5. 10. 11	6. 6. 12	
218	24. 12. 06	F.	R.	—	—	—	—	—	5. 5. 09: T.-frei
266	11. 3. 07	—	F.	—	—	—	—	—	
268	24. 4. „	—	R.	—	—	—	—	—	
326	22. 12. „	—	—	F.	F.	R.	—	—	11. 9. 10: T.
342	30. 1. 08	—	—	F.	F.	—	—	—	
344	20. 4. „	—	—	F.	F.	R.	—	—	
388	?	—	—	—	R.	—	—	—	
418	15. 9. 09	—	—	—	F.	R.	—	—	
420	10. 4. „	—	—	—	F.	R.	—	—	
432	27. 9. „	—	—	—	—	F.	F.	F.	

Gruppe	471—489:	1 IE.	den	30. 11. 06,	5 IE.	den	4. 3. 07
„	617—625:	1 „	„	4. 3. 07,	5 „	„	31. 5. 07
„	789—805:	1 „	„	30. 10. 07,	5 „	„	1. 2. 08
„	915—929:	1 „	„	1. 2. 08,	5 „	„	29. 4. 08
„	981—995:	1 „	„	29. 4. 08,	5 „	„	22. 7. 08
„	017—029:	1 „	„	22. 7. 08,	5 „	„	20. 10. 08
„	0163—0167:	1 „	„	20. 10. 08,	5 „	„	12. 1. 09
„	0237—0243:	1 „	„	12. 1. 09,	5 „	„	16. 4. 09
„	0291—0299:	1 „	„	16. 4. 09,	5 „	„	12. 7. 09
„	0311—0319:	1 „	„	12. 7. 09,	5 „	„	14. 10. 09
„	0331—0349:	1 „	„	14. 10. 09,	5 „	„	12. 1. 10
„	0381—0393:	1 „	„	12. 1. 10,	5 „	„	15. 4. 10
„	0411—0419:	1 „	„	15. 4. 10,	5 „	„	14. 7. 10

## Obduktionsergebnisse.

No. 485 wurde am 11. 9. 10 geschlachtet. Es hatte nicht auf 1 IE., aber auf Tuberkulin am 11. 1. 09 reagiert: Tuberkulose in einigen Mediastinaldrüsen (Regnér).

No. 619 wurde am 26. 5. 08 geschlachtet. Hatte nicht auf 1 IE. und auch nicht auf Tuberkulin am 31. 10. 07 reagiert. Frei von Tuberkulose (Regnér).

No. 266 wurde am 5. 5. 09 geschlachtet. Hatte nicht auf Tuberkulin am 11. 1. 09 reagiert. Frei von Tuberkulose (Regnér).

No. 803 wurde am 26. 11. 10 geschlachtet. Hatte kaum auf 1 IE. und nicht auf Tuberkulin am 11. 1. 09, 14. 10. 09 und 14. 4. 10 reagiert. Kleinere tuberkulöse Herde in den Bronchial- und Mediastinaldrüsen (Regnér).

No. 921 wurde am 11. 9. 10 geschlachtet. Hatte nicht auf 1 IE. und nicht auf Tuberkulin am 14. 10. 09 und 14. 4. 10 reagiert. Frei von Tuberkulose (Regnér).

No. 919 wurde am 26. 11. 10 geschlachtet. Hatte nicht auf 1 IE. und nicht auf Tuberkulin am 14. 10. 09 und 14. 4. 10 reagiert. Frei von Tuberkulose (Regnér).

No. 342 wurde am 11. 9. 10 geschlachtet. Hatte nicht auf Tuberkulin am 14. 10. 09 und 14. 4. 10 reagiert. Ein haselnußgroßer verkalkter tuberkulöser Herd in einer Bronchialdrüse (Regnér).

No. 019 wurde am 17. 2. 10 geschlachtet. Hatte nicht auf 1 IE. und nicht auf Tuberkulin am 14. 10. 09 reagiert. Frei von Tuberkulose (A. Bergstrand).

No. 0165 wurde am 18. 7. 10 geschlachtet. Hatte kaum auf 1 IE., aber auf Tuberkulin am 14. 4. 10 reagiert. Tuberkulose in allen Lymphdrüsen der Brusthöhle, Lungentub., Tub. in allen Lymphdrüsen der Bauch- und Beckenhöhle, sowie in Leber, Nieren und Gebärmutter. Hatte gehustet und war abgemagert; hatte eine Iritis im rechten Auge gezeigt, die die Herausnahme des Auges veranlaßt und sich als von tuberkulöser Natur erwiesen hatte (Regnér und Stenström).

No. 0339 wurde am 27. 6. 10 geschlachtet. Hatte nicht auf 1 IE. reagiert. Nicht mit Tuberkulin untersucht. Frei von Tuberkulose (Magnell).

Auf dem Versuchsgut I haben wir vollständig 77 Tiere geimpft. Von der zweiten Impfung mußten nämlich 9 Tiere ausgeschlossen werden, davon 7 wegen Reaktion auf 1 IE. (791, 923, 029, 0295, 0343, 0347, 0413), eines (925) wegen Lungenleidens und eines (981) deshalb, weil es

sich nicht einfangen ließ. Das Alter der Impftiere bei der ersten Injektion variierte zwischen 4 Tagen und 6 Monaten 4 Tagen. Aus der Versuchsreihe sind ferner rechtmäßigerweise 4 Tiere (471, 473, 475, 477) auszuschneiden, da sie im Kuhstall aufgezogen und demnach nicht gegen natürliche Infektion geschützt worden sind. Sie reagierten auch sowohl auf 1 IE. als auch bei der ersten Tuberkulinprobe nach der Impfung. Daß diese Tiere überhaupt geimpft wurden, beruhte auf der besonderen Bitte des Eigentümers.

Den Impftieren entsprechen 10 Kontrolltiere; nur mit Schwierigkeit konnten nämlich solche Tiere dem Bestande entnommen werden.

### Versuchsgut III.

Betreffs der Tuberkuloseverhältnisse auf diesem Gute sei auf den Bericht über unsere erste Versuchsreihe verwiesen.

Hier wurde ein besonderer Kälberstall an dem einen Ende des Stallgebäudes eingerichtet, von diesem durch eine dichte Bretterwand ohne Tür getrennt. Die Tiere wurden mit gekochter Milch aufgezogen, das Kochen geschah aber bisweilen nicht mit der nötigen Sorgfalt. Die Impftiere 443, 449, 451, 453, 455 und 465 wurden aus Mangel an Raum am 13. Mai 1907 im Ochsenhaus eingestellt, wo sie demnach (siehe unten) 2 Monate 7 Tage nach abgeschlossener Impfung möglicherweise einer Ansteckung ausgesetzt zu werden begannen. Später wurden die Versuchstiere auf verschiedene Vorwerke verteilt, sie waren aber weit über die vorgeschriebene Zeit — 3 Monate — nach 5 IE. isoliert.

Gruppe 441—	469: 1 IE. den 28. 11. 06,	5 IE. den 6. 3. 07
„ 627— 645:	1 „ „ 6. 3. 07,	5 „ „ 3. 6. 07
„ 807— 815:	1 „ „ 1. 11. 07,	5 „ „ 29. 1. 08
„ 899— 913:	1 „ „ 29. 1. 08,	5 „ „ 28. 4. 08
„ 0101—0137:	1 „ „ 17. 9. 08,	5 „ „ 14. 12. 08

(S. folgende Tabelle.)

### Obduktionsergebnisse.

No. 453 wurde am 12. 3. 10 geschlachtet. Hatte nicht auf 1 IE. und auch nicht auf Tuberkulin am 28. 1. 08 und 20. 4. 09 reagiert. Frei von Tuberkulose (Löwenadler).

No. 809 wurde am 30. 10. 08 geschlachtet. Hatte kaum auf 1 IE., aber auf Tuberkulin am 13. 10. 08 reagiert. Tuberkulose in der linken Retropharyngealdrüse, beiden Submaxillardrüsen, den hinteren Mediastinal- und den meisten Mesenterialdrüsen (Stenström).

Auf dem Versuchsgut III wurden somit 47 Tiere vollständig geimpft. Von den Versuchen wurden wegen Reaktion auf 1 IE. 8 Kälber (457, 461, 629, 905, 0111, 0117, 0127, 0129) ausgeschlossen. 0101 war bei der zweiten Impfung von dem Gute abwesend, und 0105 starb 3 Stunden nach 1 IE. (Lungentuberkulose). Infolge eines Mißverständnisses wurde die Temperatur nicht gemessen an der Gruppe 0101—0137 an demselben Tage, wo 5 IE. injiziert worden waren; davon nur bei 4 Tieren eine Temperatur über 40°. Das Alter der Impftiere bei der ersten Impfung variierte zwischen 9 Tagen und 8 Monaten.

Die Zahl der Kontrollkälber betrug 18.

Impf.No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am					Ob- duktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	28. 1. 08	13. 10. 08	20. 4. 09	18. 4. 10	10. 5. 11	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung							
441	4. 9. 06	38,3	39,2	38,4	40,2	F.	—	R.	—	—	12. 3. 10: T.-frei
443	3. 9. "	38,9	39,6	38,8	40,7	R.	—	—	—	—	
445	2. 9. "	39,1	39,5	38,8	40,7	R.	—	—	—	—	
447	16. 9. "	38,6	39,8	38,5	40,2	F.	—	R.	—	—	
449	28. 9. "	39,2	39,8	38,8	41,1	F.	—	F.	—	F.	
451	3. 9. "	39,0	39,2	38,2	40,4	F.	—	R.	—	—	
453	15. 8. "	38,8	39,4	38,3	40,7	F.	—	F.	—	—	
455	20. 6. "	38,7	39,1	38,6	40,7	F.	—	F.	—	—	
457	1. 7. "	38,7	40,4	—	—	—	—	—	—	—	
459	29. 9. "	38,6	39,9	38,4	40,7	F.	—	R.	—	—	
461	28. 9. "	38,4	40,6	—	—	—	—	—	—	—	30. 10. 08: T.
463	20. 9. "	38,3	39,1	38,5	40,4	F.	—	F.	F.	F.	
465	17. 9. "	38,7	39,0	38,6	41,0	F.	—	F.	F.	F.	
467	27. 10. "	38,2	39,6	38,6	40,2	F.	—	F.	R.	—	
469	30. 10. "	38,7	39,3	38,6	40,2	F.	—	F.	F.	F.	
627	19. 11. "	38,0	39,1	38,4	40,2	F.	F.	F.	F.	F.	
629	17. 11. "	38,8	40,7	—	—	—	—	—	—	—	
631	7. 12. "	39,2	39,5	38,7	40,0	R.	—	—	—	—	
633	7. 12. "	38,9	39,4	38,7	39,9	F.	F.	F.	F.	F.	
635	10. 12. "	39,4	39,8	38,6	40,6	R.	—	—	—	—	
637	19. 12. "	39,0	39,5	38,6	40,0	F.	F.	F.	—	F.	
639	7. 2. 07	38,6	39,6	39,1	41,2	F.	—	F.	F.	F.	
641	25. 1. "	38,5	39,3	39,0	41,3	R.	—	—	—	—	30. 10. 08: T.
643	25. 1. "	40,1	40,7	38,5	40,4	F.	F.	F.	—	F.	
645	2. 2. "	38,8	39,8	38,5	41,0	R.	—	—	—	—	
807	7. 8. "	39,0	39,2	38,6	40,2	—	F.	F.	F.	F.	
809	24. 8. "	39,2	40,3	38,8	41,5	—	R.	—	—	—	
811	13. 9. "	38,6	39,4	38,3	39,9	—	F.	F.	—	F.	
813	24. 9. "	39,0	39,2	39,1	41,2	—	F.	F.	R.	—	
815	27. 9. "	39,1	39,4	39,2	41,0	—	R.	—	—	—	
899	28. 10. "	39,0	39,9	39,2	40,2	—	—	F.	F.	F.	
901	30. 10. "	38,8	39,5	38,7	39,9	—	—	F.	F.	F.	
903	8. 11. "	38,7	39,9	38,9	40,7	—	—	R.	—	—	30. 10. 08: T.
905	27. 11. "	38,8	40,6	—	—	—	—	—	—	—	
907	25. 11. "	40,1	39,7	38,4	41,2	—	—	R.	—	—	
909	14. 12. "	39,1	39,5	39,2	40,8	—	—	F.	F.	F.	
911	28. 12. "	39,1	39,5	39,2	41,0	—	—	F.	?	F.	
913	28. 12. "	38,9	39,4	39,1	40,1	—	—	F.	F.	F.	
0101	21. 1. 08	38,8	39,6	—	—	—	—	—	—	—	
0103	31. 1. "	39,0	39,5	39,0	39,1	—	—	—	R.	—	
0105	9. 2. "	39,2	—	—	—	—	—	—	—	—	
0107	9. 4. "	39,2	39,6	39,2	40,5	—	—	—	R.	—	
0109	10. 4. "	39,5	40,0	39,0	40,1	—	—	—	—	F.	30. 10. 08: T.
0111	18. 3. "	39,2	41,2	—	—	—	—	—	—	—	
0113	21. 5. "	38,6	39,3	39,1	39,2	—	—	—	R.	—	
0115	29. 5. "	39,0	39,8	39,7	40,0	—	—	—	F.	F.	
0117	7. 8. "	39,3	40,3	—	—	—	—	—	—	—	
0119	8. 8. "	39,2	39,9	39,2	39,5	—	—	—	F.	F.	
0121	9. 8. "	38,9	39,4	38,9	39,6	—	—	—	F.	F.	
0123	15. 8. "	38,7	39,6	39,3	39,4	—	—	—	F.	F.	
0125	20. 8. "	38,8	39,9	39,3	39,2	—	—	—	R.	—	
0127	23. 8. "	39,1	40,0	—	—	—	—	—	—	—	
0129	24. 8. "	38,5	41,0	—	—	—	—	—	—	—	30. 10. 08: T.
0131	24. 8. "	38,6	39,5	39,1	39,6	—	—	—	F.	F.	
0133	5. 9. "	39,1	39,7	39,0	39,4	—	—	—	F.	F.	
0135	5. 9. "	39,5	40,1	38,8	39,6	—	—	—	F.	F.	
0137	8. 9. "	39,0	39,5	39,0	40,3	—	—	—	F.	F.	

## Kontrolltiere.

Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am					Ob- duktion
		28. 1. 08	13. 10. 08	20. 4. 09	18. 4. 10	10. 5. 11	
180	8. 11. 06	F.	—	R.	—	—	
182	12. 11. "	F.	—	R.	—	—	
184	14. 11. "	R.	—	—	—	—	
186	12. 11. "	F.	F.	F.	—	—	
220	19. 11. "	R.	—	—	—	—	
222	19. 12. "	R.	—	—	—	—	
272	13. 2. 07	F.	F.	F.	F.	F.	
274	1. 4. "	F.	R.	—	—	—	
276	17. 4. "	—	F.	F.	F.	F.	
296	13. 7. "	—	F.	F.	F.	F.	
298	30. 10. "	—	F.	F.	F.	F.	
322	3. 1. 08	—	F.	F.	F.	F.	
324	13. 1. "	—	F.	F.	—	—	
372	8. 9. "	—	F.	F.	—	F.	
374	8. 9. "	—	F.	F.	R.	—	
376	13. 7. "	—	F.	F.	F.	F.	
378	30. 7. "	—	R.	—	—	—	
380	19. 7. "	—	F.	F.	F.	R.	

## Versuchsgut XIII.

Der Bestand, auf das Hauptgut und ein kleineres Vorwerk verteilt, wurde mit Tuberkulin das erste Mal im November 1900 untersucht mit dem Ergebnis:

auf dem Hauptgut:  $\frac{16 + 0 + 28}{44} + \frac{2 + 0 + 9}{11} + \frac{1 + 0 + 0^1)}{1} = 66 \text{ Proz. Reaktion};$

auf dem Vorwerk:  $\frac{0 + 0 + 0}{0} + \frac{0 + 0 + 0}{0} + \frac{32 + 0 + 1}{33} = 3,3 \text{ Proz. Reaktion.}$

Im November 1906 wurde der Bestand auf dem Hauptgut von neuem geprüft und dabei folgendes Resultat erhalten:

neuer Rinderstall:  $\frac{12 + 3 + 18}{33} + \frac{20 + 3 + 20}{43} + \frac{1 + 0 + 2}{3} = 50,6 \text{ Proz. Reaktion};$

Kälberstall:  $\frac{0 + 0 + 0}{0} + \frac{0 + 0 + 0}{0} + \frac{20 + 2 + 4}{26} = 15,4 \text{ Proz. Reaktion.}$

Die Kälber waren der Angabe nach vor Ansteckung geschützt worden.

Die Versuchstiere waren in einem besonderen Kälberstall auf dem Hauptgut untergebracht, das einige hundert Meter von dem Kuhstall entfernt belegen war. Sie wurden mit gekochter Milch aufgezogen und hatten einen besonderen Wärter. Im November 1907 wurden einige von ihnen (491, 503, 505, 188, 190, 192) mit 18 aus Dänemark eingeführten reaktionsfreien Färsen in einem abgesonderten Teil des Kälberstalles zusammengebracht. Von hier aus wurden die Versuchstiere auf das Vorwerk gebracht, wo sie vollständig isoliert waren, bis sie im Färsenalter nach dem Hauptgut zurückkehrten, wo sie in einen neuerbauten

1) Lies: Von 44 über 2 Jahre alten Tieren 16 nicht, 0 zweifelhaft und 28 reagierend, von 11 1—2 Jahre alten Tieren 2 nicht, 0 zweifelhaft und 9 reagierend, von unter 1 Jahr alten Tieren 1 nicht, 0 zweifelhaft und 0 reagierend. Diese Bezeichnungsweise wird auch im folgenden angewandt. Waren eine oder zwei von den Altersgruppen bei der Untersuchung nicht vertreten, so werden sie doch jedenfalls bezeichnet, nämlich so:

$$\frac{0 + 0 + 0}{0}.$$

Laternenstall mit tuberkulösem Bestande eingestellt wurden. Da es sich zeigte, daß viele von den Kälbern von den Versuchen wegen Reaktion auf 1 IE. ausgeschlossen werden mußten, wurde durch Tuberkulinprobe am 20. Okt. 1908 eine Anzahl reaktionsfreier Kühe ausgewählt, deren Milch nach Kochen zur Aufzucht der Kälber verwendet wurde.

Gruppe 491—519: 1 IE. den 18. 12. 08, 5 IE. den 15. 3. 07  
 „ 177—685: 1 „ „ 15. 3. 07, 5 „ „ 11. 6. 07  
 „ 759—787: 1 „ „ 22. 10. 07, 5 „ „ 17. 1. 08  
 „ 887—897: 1 „ „ 17. 1. 08, 5 „ „ 22. 4. 08  
 „ 0139—0161: 1 „ „ 21. 9. 08, 5 „ „ 22. 12. 08  
 „ 0215—0235: 1 „ „ 22. 12. 08, 5 „ „ 27. 3. 09

Impf.No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am		Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	23. 4. 08	26. 3. 09	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung				
491	18. 7. 06	39,0	39,8	38,9	40,5	F.	R.	20. 2. 08: T.
493	24. 9. "	38,8	40,3	39,0	40,2	F.	?	
495	13. 11. "	38,9	39,4	38,4	39,8	F.	—	
497	4. 10. "	38,8	39,6	38,8	40,6	F.	—	
499	27. 10. "	38,2	39,4	38,7	40,2	R.	—	
501	23. 10. "	37,7	39,1	38,6	40,2	F.	?	
503	22. 7. "	38,6	39,6	38,5	40,3	F.	?	
505	17. 11. "	39,1	39,6	39,0	41,1	F.	F.	
507	1. 10. "	38,8	39,8	38,5	40,9	F.	R.	
509	28. 9. "	38,5	39,9	38,6	40,3	F.	F.	
511	11. 11. "	39,2	39,5	39,0	40,5	R.	—	
513	19. 11. "	39,1	39,8	38,9	40,7	F.	F.	
515	12. 11. "	38,9	39,7	38,7	40,4	F.	R.	
517	4. 11. "	39,3	39,9	38,8	40,5	F.	F.	
519	12. 9. "	38,8	39,7	38,5	39,8	F.	R.	
677	10. 12. "	38,3	39,3	39,0	40,0	F.	—	
679	5. 1. 07	39,4	40,1	39,4	—	—	—	
681	30. 12. 06	38,5	39,8	39,7	40,3	F.	F.	
683	10. 1. 07	38,9	39,2	39,5	40,1	F.	R.	
685	13. 1. "	38,8	39,5	38,7	40,7	R.	—	
759	9. 9. "	39,1	39,3	39,3	39,8	—	F.	
761	19. 9. "	39,1	39,4	39,1	41,4	—	F.	
763	2. 9. "	39,4	39,7	40,1	41,8	—	F.	
765	12. 3. "	38,6	39,8	39,3	41,2	—	R.	
767	14. 9. "	39,0	39,3	39,0	39,7	—	F.	
769	28. 9. "	39,8	40,3	39,1	41,0	—	F.	
771	8. 9. "	38,8	39,3	39,3	40,3	—	F.	
773	5. 5. "	38,9	39,4	39,2	40,4	—	F.	
775	14. 3. "	39,4	41,2	39,2	40,2	—	R.	
777	26. 4. "	39,0	39,9	39,5	40,5	—	F.	
779	4. 4. "	38,7	39,1	39,0	40,5	—	F.	
781	20. 7. "	39,2	39,6	39,4	41,0	—	F.	
783	3. 6. "	38,7	39,1	39,1	40,7	—	F.	
785	24. 8. "	39,1	39,7	39,0	40,7	—	F.	
787	1. 5. "	38,8	39,4	39,2	40,7	—	F.	
887	16. 10. "	39,3	39,4	38,6	40,0	—	F.	
889	21. 10. "	39,0	40,2	—	—	—	—	
891	30. 10. "	38,2	39,8	38,8	39,4	—	F.	
893	11. 11. "	39,6	40,7	—	—	—	—	
895	9. 11. "	39,4	40,7	—	—	—	—	
897	9. 1. 08	39,6	40,3	—	—	—	—	
0139	31. 3. "	39,0	40,6	—	—	—	—	
0141	14. 4. "	38,9	39,4	39,3	40,6	—	—	

20. 2. 08: T.



Impf.No.	Geboren	Temperatur				Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung		
0143	24. 4. 08	38,7	40,9	—	—	
0145	14. 5. „	39,0	39,6	38,8	40,4	
0147	19. 6. „	39,1	40,7	—	—	
0149	10. 7. „	39,8	40,1	38,6	41,0	
0151	25. 7. „	39,5	39,8	39,0	40,5	

Impf.No.	Geboren	Temperatur				Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung		
0153	4. 8. 08	39,1	39,7	39,1	40,6	6. 2. 08: T.-frei  1. 2. 08: T.-frei 9. 1. 08: T.-frei
0155	10. 8. "	38,9	39,9	38,5	41,0	
0157	15. 8. "	39,1	40,3	—	—	
0159	4. 9. "	39,4	40,1	39,0	41,1	
0161	3. 9. "	39,4	40,0	39,1	40,4	
0215	28. 9. "	38,8	40,4	—	—	
0217	9. 10. "	38,7	39,1	—	—	
0219	25. 10. "	38,3	39,9	38,6	40,5	
0221	14. 11. "	39,1	40,2	—	—	
0223	15. 11. "	39,7	40,1	—	—	
0225	29. 11. "	40,1	40,7	38,7	40,6	
0227	2. 12. "	38,8	39,9	39,8	40,6	
0229	10. 10. "	39,3	40,1	38,8	40,8	
0231	23. 10. "	39,2	39,7	38,7	40,8	
0233	8. 11. "	39,7	40,5	38,9	40,5	
0235	14. 12. "	38,9	39,3	39,2	40,0	

## Kontrolltiere.

Kontroll-No.	Geboren		Tuberkulin-probe am		Obduktion	Kontroll-No.	Geboren		Tuberkulin-probe am		Obduktion	
			23. 4. 08	26. 3. 09					26. 3. 09			
188	6.	4.	06	F.	R.	8. 5. 09: T.	290	27.	7.	07	F.	18. 2. 09: T.-frei
190	15.	8.	„	F.	R.		292	17.	9.	„	F.	
192	20.	5.	„	F.	R.		294	26.	5.	„	F.	
194	13.	9.	„	F.	R.		314	23.	11.	„	F.	
196	26.	9.	„	F.	F.		316	9.	12.	„	F.	
230	20.	12.	„	F.	F.		318	10.	11.	„	F.	
232	11.	12.	„	F.	R.		320	2.	1.	08	—	
234	25.	12.	„	F.	R.		382	8.	1.	„	F.	
236	18.	12.	„	F.	R.	384	28.	2.	„	—		
238	20.	1.	07	F.	R.	386	25.	3.	„	F.		
288	28.	5.	„	—	R.							

## Obduktionsergebnisse.

No. 188 wurde am 8. 5. 09 geschlachtet. Hatte nicht auf Tuberkulin am 23. 4. 08 reagiert, reagierte aber am 26. 3. 09. Tuberkulose in den Mediastinaldrüsen (Florén).

No. 384 wurde am 18. 2. 09 geschlachtet. Frei von Tuberkulose (Johnsson).



Auf dem Versuchsgut XIII wurde das Versuchsmaterial sehr beträchtlich reduziert, teils wegen Reaktion auf 1 IE., teils weil die Versuche infolge Uebergangs des Grundstücks in anderen Besitz im Frühjahr 1909 abgebrochen wurden, wodurch wir auch daran gehindert wurden, Tuberkulinproben im erwünschten Umfange anzustellen. Außerdem starb ein Kalb (679) 6 Stunden nach der zweiten Impfung unter Symptomen von Lungenödem. Das Alter der Impftiere bei Injektion von 1 IE. variierte zwischen 8 Tagen und 7 Monaten 11 Tagen.

Wir rechnen hier nur mit 36 Impftieren und 20 Kontrolltieren.

#### Versuchsgut XIV.

Der auf dem Hauptgut und einem Vorwerk untergebrachte Bestand wurde teilweise mit Tuberkulin im Dezember 1901 mit folgendem Ergebnis untersucht:

auf dem Hauptgut:  $\frac{26 + 0 + 25}{51} + \frac{0 + 0 + 0}{0} + \frac{0 + 0 + 0}{0} = 49 \text{ Proz. Reaktion;}$

auf dem Vorwerk:  $\frac{9 + 0 + 46}{55} + \frac{0 + 0 + 0}{0} + \frac{0 + 0 + 0}{0} = 80,6 \text{ Proz. Reaktion.}$

Neue Prüfung im Februar 1906 mit dem Ergebnis:

auf dem Hauptgut:  $\frac{29 + 2 + 13}{44} + \frac{9 + 0 + 2}{11} + \frac{3 + 0 + 0}{3} = 25,9 \text{ Proz. Reaktion;}$

auf dem Vorwerk:  $\frac{4 + 0 + 46}{50} + \frac{1 + 0 + 17}{18} + \frac{2 + 0 + 0}{2} = 90 \text{ Proz. Reaktion.}$

Die Versuchstiere wurden mit gekochter Milch von 3 reaktionsfreien Ammenkühen aufgezogen, die nebst den Kälbern in einer als Kälberstall eingerichteten Abteilung des Pferdestalles aufgestellt waren. Die Kühe waren aus tuberkelfreien Kleinbeständen angekauft worden. Am 1. Oktober 1907 wurden 547, 549, 553, 555, 557, 559 sowie die Kontrollkälber 242, 244 und 246 aus dem Kälberstall nach dem großen Rinderstall verbracht, wo sie an einem besonderen Futtertisch einander gegenüber aufgestellt wurden. Später wurde ein Jungviehstall auf dem Vorwerk eingerichtet, wohin die Versuchstiere nach und nach überführt wurden:

Gruppe	541— 559:	1 IE. den	28. 1. 07,	5 IE. den	9. 5. 07
"	719— 737:	1 " "	10. 10. 07,	5 " "	13. 1. 08
"	879— 885:	1 " "	13. 1. 08,	5 " "	14. 3. 08
"	031— 049:	1 " "	1. 9. 08,	5 " "	26. 11. 08
"	0169—0173:	1 " "	26. 11. 08,	5 " "	20. 2. 09
"	0245—0263:	1 " "	20. 2. 09,	5 " "	17. 5. 09

(S. folgende Tabelle.)

Auf dem Versuchsgut XIV haben wir demnach 42 Kälber geimpft. Ihr Alter bei der Injektion von 1 IE. variierte zwischen kaum 1 Tage (!) und 6 Monaten 25 Tagen. Es war sehr schwer, Angaben von diesem Gute zu erhalten, und eine Schlachtanmeldung wurde nie erstattet, obwohl verschiedene von den Versuchstieren geschlachtet worden sind.

Die Anzahl der Kontrolltiere betrug 8; 202 und 352, die weder mit Tuberkulin geprüft, noch obduziert wurden, sind nicht mitgerechnet.

Impf.-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am			Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	14. 4. 08	4. 12. 09	5. 5. 11	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung					
541	10. 4. 06	39,1	40,9	—	—	—	—	—	
543	3. 7. "	39,4	39,8	38,5	39,7	F.	F.	F.	
545	7. 8. "	39,1	39,3	38,8	40,4	F.	R.	—	
547	13. 10. "	39,0	39,6	39,4	40,7	F.	R.	—	
549	15. 11. "	39,3	39,6	39,1	40,9	F.	F.	—	
551	15. 11. "	39,1	40,9	—	—	—	—	—	
553	27. 12. "	39,0	39,1	39,1	40,7	F.	F.	F.	
555	30. 12. "	39,1	39,3	39,2	40,7	F.	F.	R.	
557	12. 1. 07	39,0	39,7	39,1	40,4	F.	R.	—	
559	12. 1. "	39,6	40,2	39,0	40,5	F.	F.	F.	
719	25. 5. "	39,5	39,8			—	F.	F.	
721	18. 6. "	39,3	39,4			—	R.	—	
723	25. 5. "	39,4	39,6			—	?	—	
725	14. 5. "	39,1	39,6			—	R.	—	
727	24. 6. "	39,5	39,3	Angaben über die Temperatur nicht mitgeteilt		—	F.	F.	
729	8. 9. "	38,7	39,3			—	?	—	
731	29. 8. "	38,9	38,9			—	R.	—	
733	20. 9. "	38,5	39,2			—	R.	—	
735	13. 9. "	37,8	39,1			—	R.	—	
737	26. 8. "	38,9	39,4			—	R.	—	
879	13. 12. "	38,9		38,7	40,1	—	F.	F.	
881	8. 12. "	39,8		38,8	40,8	—	R.	—	
883	30. 10. "	38,8	Nicht mitgeteilt	38,7	40,0	—	?	R.	
885	30. 11. "	39,4		38,2	40,4	—	F.	R.	
031	27. 7. 08	39,3	39,3	38,9	40,7	—	F.	R.	
033	25. 8. "	39,3	39,7	38,8	40,7	—	R.	—	
035	17. 5. "	38,6	39,3	40,2	40,0	—	F.	F.	
037	25. 4. "	38,6	39,3	39,7	40,6	—	F.	F.	
039	15. 8. "	39,1	39,4	39,6	40,5	—	F.	F.	
041	15. 8. "	39,4	39,5	39,6	39,9	—	R.	—	
043	20. 5. "	39,2	40,0	39,3	40,4	—	F.	—	
045	8. 2. "	39,0	39,5	39,3	41,3	—	F.	R.	
047	26. 4. "	39,2	39,2	39,3	40,7	—	F.	R.	
049	12. 3. "	39,6	39,6	39,6	40,7	—	F.	F.	
0169	1. 10. "	39,3	39,3	39,1	39,8	—	—	F.	
0171	21. 9. "	38,8	39,1	—	—	—	—	—	
0173	30. 10. "	38,7	39,6	39,2	39,8	—	—	R.	
0245	2. 12. "	39,3	39,6	38,2	40,0	—	—	R.	
0247	6. 12. "	38,7	39,1	39,0	40,4	—	—	F.	
0249	4. 12. "	39,2	39,4	38,1	40,6	—	—	F.	
0251	20. 12. "	38,7	39,3	38,3	40,5	—	—	F.	
0253	11. 1. 09	39,2	39,6	39,3	40,9	—	—	F.	
0255	13. 1. "	39,5	41,0	—	—	—	—	—	

Impf.-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am		Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	4. 12. 09	5. 5. 11	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung				
0257	16. 1. 09	39,6	40,8	—	—	—	—	
0259	7. 2. "	39,2	39,8	38,7	40,5	—	F.	
0261	9. 2. "	39,3	39,4	38,7	40,5	—	F.	
0263	20. 2. "	39,3	39,4	38,7	39,7	—	F.	

## Kontrolltiere.

Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am		Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am	
		14. 4. 08	4. 12. 09			4. 12. 09	5. 5. 11
200	19. 2. 06	F.	R.	352	15. 1. 08	—	—
202	11. 5. "	—	—	354	12. 1. "	F.	F.
242	2. 3. "	F.	R.	356	14. 1. "	F.	F.
244	23. 3. "	F.	R.	422	15. 3. 09	—	R.
246	3. 2. "	F.	R.	424	29. 4. "	—	R.

## Versuchsgut XV.

Auf diesem Gute verfügten wir für die Versuchstiere über einen Kälberstall, der in dem einen Flügel des Hauptstallgebäudes eingerichtet, aber von diesem sonst wohl abgetrennt war und einen besonderen Wärter hatte. Die Milch wurde gekocht. Von dem Kälberstall wurden die Tiere auf ein Vorwerk gebracht, wo sie vollständig isoliert waren. Dieses Vorwerk wurde indessen im März 1909 verpachtet, weshalb die dort stehenden Versuchstiere bis zu 015 einschließlich wieder nach dem Hauptstall gebracht und dort unter tuberkulöse Tiere eingestellt wurden. Spätere Impfgruppen wurden in diesen Stall ungefähr  $\frac{1}{2}$  Jahr nach 5 IE. eingestellt, doch wurden die Tiere stets isoliert gehalten.

Da der Bestand zugestandenmaßen in hohem Grade tuberkulös war und der Eigentümer infolgedessen ihn nicht einer Untersuchung mit Tuberkulin unterziehen wollte, so wurde nur eine Tuberkulinprobe an 8 Kälbern unmittelbar vor dem Beginn der Versuche angestellt, wobei sämtliche Tiere reagierten.

Gruppe 647— 675:	1 IE. den 6. 3. 07, 5 IE. den 2. 6. 07
" 697— 705:	1 " " 2. 6. 07, 5 " " 2. 9. 07
" 709— 717:	1 " " 2. 9. 07, 5 " " 5. 12. 07
" 839— 847:	1 " " 5. 12. 07, 5 " " 7. 3. 08
" 961— 979:	1 " " 7. 3. 08, 5 " " 10. 6. 08
" 997— 015:	1 " " 10. 6. 08, 5 " " 7. 9. 08
" 091— 099:	1 " " 7. 9. 08, 5 " " 3. 12. 08
" 0205—0213:	1 " " 3. 12. 08, 5 " " 25. 2. 09
" 0265—0273:	1 " " 25. 2. 09, 5 " " 25. 5. 09
" 0301—0309:	1 " " 25. 5. 09, 5 " " 21. 8. 09
" 0321—0329:	1 " " 21. 8. 09, 5 " " 16. 11. 09
" 0351—0379:	1 " " 4. 1. 10, 5 " " 9. 4. 10
" 0395—0409:	1 " " 9. 4. 10, 5 " " 7. 7. 10

(S. folgende Tabelle.)

Auf dem Versuchsgut XV wurden vollständig 81 Kälber geimpft. Nicht weniger als 14 Kälber mußten von der zweiten Injektion wegen Reaktion nach 1 IE. ausgeschlossen werden. Die erstgenannte Anzahl wurde wesentlich dezimiert durch die große Neigung des Eigentümers, ökonomisch die Impfungen auszunutzen, bevor noch die Versuche abgeschlossen worden waren; auf diese Weise wurden 9 Impftiere nicht mit Tuberkulin geprüft, bevor sie verkauft wurden. 705, 969 und 0205 wurden wegen Krankheit geschlachtet, ohne daß eine Anmeldung davon geschah, so daß eine Obduktion nicht vorgenommen werden konnte. Das Alter der Impftiere bei 1 IE. schwankte zwischen 5 Tagen und 5 Monaten 14 Tagen.

Die Anzahl der Kontrolltiere belief sich auf 26. Im Alter von etwas über 4 Monaten wurde 406 geschlachtet. Die Obduktion ergab angeborene

Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am			Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	7. 3. 08	25. 2. 09	26. 4. 11	
		der 1. Impfung	der 2. Impfung	der 1. Impfung	der 2. Impfung				
647	7. 11. 06	39,2	39,4	38,6	40,9	F.	—	—	
649	11. 11. "	38,5	39,0	38,2	41,0	F.	F.	—	
651	20. 11. "	38,0	39,5	38,6	40,7	F.	F.	—	
653	21. 11. "	38,6	39,4	38,7	41,5	F.	—	—	
655	23. 11. "	38,8	39,3	38,8	40,9	F.	F.	F.	
657	7. 12. "	38,4	39,9	38,4	41,2	F.	F.	—	
659	10. 12. "	38,6	39,4	38,8	41,4	F.	F.	R.	
661	10. 12. "	38,8	39,6	38,7	40,1	F.	—	—	
663	16. 12. "	39,0	40,2	38,6	41,3	F.	F.	—	
665	28. 12. "	38,8	39,7	39,0	40,5	F.	F.	—	
667	14. 1. 07	38,9	40,1	38,6	40,4	F.	F.	—	
669	18. 1. "	39,8	40,4	39,1	40,4	F.	F.	R.	
671	26. 1. "	38,4	39,7	39,0	41,3	F.	F.	R.	
673	6. 2. "	39,2	39,7	—	—	—	—	—	
675	21. 2. "	38,5	39,5	39,4	41,1	F.	F.	F.	
697	22. 4. "	38,9	39,7	39,2	41,2	F.	F.	R.	
699	9. 3. "	38,9	39,2	39,0	41,0	F.	F.	—	
701	24. 5. "	38,1	38,6	39,1	40,6	F.	F.	R.	
703	26. 4. "	39,0	39,6	39,6	41,3	F.	F.	R.	
705	10. 4. "	38,9	38,9	39,1	41,2	—	—	—	
709	6. 6. "	39,2	39,3	39,2	39,5	F.	—	—	
711	17. 6. "	39,1	39,7	39,3	41,1	F.	F.	F.	
713	14. 6. "	39,1	39,9	38,9	40,8	F.	F.	R.	
715	9. 6. "	38,0	40,0	38,8	41,0	F.	F.	R.	

Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am			Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	25. 2. 09	16. 11. 09	26. 4. 11	
		der 1. Impfung	der 2. Impfung	der 1. Impfung	der 2. Impfung				
717	20. 6. 07	39,0	40,7	—	—	—	—	—	
839	25. 8. "	39,0	39,6	39,0	41,2	F.	—	—	
841	10. 8. "	38,5	39,7	38,9	40,5	F.	—	R.	
843	14. 9. "	39,0	40,1	39,0	41,0	F.	—	F.	
845	4. 11. "	39,2	40,5	39,0	40,4	F.	—	F.	
847	9. 11. "	38,7	40,1	39,0	40,9	R.	—	—	
961	19. 11. "	39,1	39,7	38,9	40,6	—	F.	—	
963	1. 12. "	39,3	39,8	39,1	41,1	—	F.	F.	
965	3. 12. "	39,2	39,7	38,5	40,8	—	—	—	
967	11. 12. "	39,3	39,8	38,6	41,1	—	F.	F.	
969	14. 12. "	38,7	40,0	38,3	41,3	—	—	—	
971	5. 1. 08	38,8	40,0	38,9	40,8	—	—	—	
973	11. 1. "	38,5	39,9	38,9	40,6	—	—	—	
975	20. 1. "	38,8	39,8	38,7	41,1	—	F.	R.	
977	6. 2. "	37,9	39,6	38,4	41,4	—	F.	F.	
979	17. 2. "	38,1	39,7	38,5	41,5	—	R.	—	
997	2. 3. "	38,6	40,9	—	—	—	—	—	
999	2. 3. "	38,7	39,8	39,3	41,2	—	F.	R.	
01	3. 3. "	38,2	39,8	39,1	41,4	—	R.	—	
03	11. 3. "	38,8	40,2	—	—	—	—	—	
05	13. 3. "	38,5	39,6	39,3	41,5	—	F.	—	
07	21. 3. "	38,6	39,6	39,5	41,1	—	F.	—	
09	23. 3. "	38,4	40,5	—	—	—	—	—	
011	24. 3. "	38,1	39,2	39,1	41,4	—	F.	—	
013	6. 4. "	38,8	39,4	39,2	40,7	—	F.	—	

Erste Abt. Orig. Bd. 72.

Heft 3.

13

Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am			Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	25. 2.	16. 11.	26. 4.	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung		09	09	11	
015	4. 5. 08	39,2	39,4	39,4	41,2	—	R.	—	
091	15. 6. "	39,5	40,6	—	—	—	—	—	
093	26. 7. "	39,5	40,4	—	—	—	—	—	
095	6. 8. "	38,9	39,8	39,3	41,4	—	F.	—	
097	14. 8. "	39,2	39,5	39,0	41,0	—	F.	R.	
099	26. 8. "	39,2	39,2	38,8	40,9	—	F.	—	
0205	13. 9. "	38,9	39,7	38,9	41,0	—	—	—	
0207	23. 10. "	38,9	39,7	38,9	41,0	—	—	—	
0209	21. 10. "	39,4	40,4	—	—	—	—	—	
0211	25. 10. "	38,9	39,6	39,1	40,9	—	—	—	
0213	15. 11. "	38,6	40,2	—	—	—	—	—	
0265	6. 12. "	39,1	39,6	38,6	40,9	—	—	—	
0267	17. 12. "	39,1	39,5	38,7	40,3	—	—	?	
0269	22. 12. "	39,5	39,8	38,8	41,3	—	—	F.	
0271	23. 12. "	39,2	40,5	—	—	—	—	—	
0273	3. 1. 09	39,0	39,8	38,9	41,2	—	—	F.	
0301	14. 2. "	38,8	39,3	39,3	41,7	—	—	—	
0303	27. 2. "	39,1	39,5	40,1	41,1	—	—	—	

Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am		Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	24. 11. 10	26. 4. 11	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung				
0305	26. 3. 09	39,3	39,8	39,4	40,4	—	F.	
0307	1. 4. "	38,9	40,4	—	—	—	—	
0309	14. 4. "	38,9	40,2	—	—	—	—	
0321	7. 3. "	39,3	40,3	—	—	—	—	
0323	15. 5. "	39,3	40,0	40,1	42,0	—	—	
0325	5. 7. "	39,1	39,5	38,9	41,9	—	F.	
0327	10. 7. "	38,4	39,6	38,9	40,8	—	F.	
0329	9. 8. "	38,6	38,8	38,7	41,0	—	F.	
0351	11. 9. "	38,9	39,5	39,1	41,1	—	F.	
0353	11. 9. "	39,4	39,7	39,1	41,1	—	F.	
0355	12. 9. "	39,4	39,6	38,8	40,8	—	F.	
0357	14. 9. "	39,1	40,5	—	—	—	—	
0359	29. 9. "	39,0	39,6	39,1	41,0	—	F.	
0361	15. 10. "	39,3	41,2	—	—	—	—	
0363	11. 11. "	38,8	39,6	38,2	41,6	R.	—	
0365	16. 11. "	39,0	39,8	39,2	40,5	F.	F.	
0367	3. 12. "	39,3	40,5	38,3	41,0	R.	—	
0369	17. 12. "	39,6	40,0	39,0	41,6	F.	F.	
0371	18. 12. "	39,0	39,5	39,1	41,2	F.	F.	
0373	25. 12. "	38,6	39,0	38,9	40,7	F.	F.	
0375	31. 12. "	38,6	38,8	39,0	40,9	F.	F.	
0377	25. 10. "	39,1	39,6	38,9	41,5	F.	—	
0379	10. 11. "	39,0	39,8	38,1	41,6	F.	F.	
0395	7. 1. 10	38,8	38,9	39,1	—	F.	F.	
0397	2. 2. "	39,0	39,6	39,2	—	F.	F.	
0399	2. 1. "	39,0	39,6	39,6	—	F.	F.	
0401	26. 1. "	38,7	39,4	39,9	—	F.	F.	
0403	4. 2. "	38,9	39,5	—	—	—	—	
0405	17. 2. "	38,9	39,6	—	—	—	—	
0407	8. 3. "	38,9	39,5	39,1	—	F.	F.	
0409	15. 3. "	39,2	39,5	39,3	—	F.	F.	

Anmerkung. 0207, 0211 und 0265 wurden an einen reaktionsfreien Bestand verkauft und zusammen mit diesem mit Tuberkulin am 19. Okt. 1909 untersucht, wobei sie sich reaktionsfrei zeigten.

## Kontrolltiere.

Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am				Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am			Obduktion
		7. 3. 08	25. 2. 09	16. 11. 09	26. 4. 11			16. 11. 09	24. 11. 10	26. 4. 11	
224	7. 11. 06	F.	F.	—	—	370	12. 8. 08	R.	—	—	25. 5. 09: T.
226	11. 11. „	F.	F.	—	R.	392	23. 7. „	—	—	R.	
270	20. 4. 07	F.	F.	—	R.	394	7. 10. „	—	—	—	
278	5. 8. „	F.	F.	—	R.	396	13. 10. „	—	—	—	
280	19. 8. „	F.	F.	—	F.	398	15. 10. „	—	—	R.	
282	13. 8. „	F.	F.	—	R.	406	13. 1. 09	—	—	—	
304	14. 11. „	—	—	R.	—	426	7. 3. „	—	—	R.	
306	16. 11. „	—	—	R.	—	428	12. 3. „	—	—	R.	
338	2. 12. „	—	—	R.	—	430	29. 6. „	—	—	R.	
340	16. 2. 08	—	—	F.	R.	434	1. 9. „	—	—	F.	
346	24. 4. „	—	—	R.	—	436	1. 9. „	—	—	R.	
348	28. 5. „	—	—	R.	—	438	9. 9. „	—	—	R.	
368	27. 7. „	—	—	R.	—	440	7. 1. 10	—	F.	F.	

Anmerkung. 394 und 396 wurden an einen reaktionsfreien Bestand verkauft und zusammen mit diesem am 19. Okt. 1909 mit Tuberkulin untersucht, wobei sie reagierten.

Tuberkulose. Die Mutter war kurz vorher wegen hochgradiger Tuberkulose geschlachtet worden.

### B. Die Versuchstiere während der ganzen Versuchszeit gegen Tuberkuloseinfektion geschützt.

#### Versuchsgut VII.

Der Bestand auf diesem Gute wurde zum erstenmal im Juni 1901 mit Tuberkulin geprüft:

$$\frac{10 + 3 + 36}{49} + \frac{10 + 0 + 1}{11} + \frac{7 + 0 + 2}{9} = 56,5 \text{ Proz. Reaktion.}$$

Das zweite Mal im Juni 1904 (reaktionsfreie Abteilung):

$$\frac{16 + 0 + 1}{17} + \frac{12 + 0 + 6}{18} + \frac{10 + 0 + 5}{15} = 24,0 \text{ Proz. Reaktion.}$$

Das dritte Mal im Juni 1905:

$$\frac{6 + 0 + 15}{21} + \frac{13 + 0 + 3}{16} + \frac{8 + 0 + 1}{9} = 41,3 \text{ Proz. Reaktion.}$$

Das vierte Mal im Dezember 1905:

$$\frac{4 + 0 + 2}{6} + \frac{18 + 0 + 0}{18} + \frac{17 + 0 + 0}{17} = 4,9 \text{ Proz. Reaktion.}$$

Die Versuchstiere waren in einem isolierten Kälberstall neben dem Rinderstall untergebracht. Die Milch wurde anfangs gekocht, später aber durch ungekochte von den reaktionsfreien Impftieren her ersetzt. Aus dem Kälberstall wurden die Tiere in einen neben dem Rinderstall liegenden, aber von diesem isolierten Jungviehstall gebracht. Indessen bekamen sie hier Wärter, die gleichzeitig den großen Rinderstall bedienten; diesen war allerdings anempfohlen worden, daß sie vor dem Dienst in den verschiedenen Abteilungen die Schuhe wechseln sollten. Später wurden die Tiere in der Weise umplaziert, daß sämtliche reaktionsfreien Tiere, einschließlich der Versuchstiere, in den Rinderstall eingestellt wurden, der zuvor desinfiziert worden war.



Gleichzeitig mit den Versuchen und auch vor diesen vom Jahre 1904 an ist ein Kampf gegen die Tuberkulose nach Bangs Methode geführt worden, weshalb die Versuchstiere bei keiner Gelegenheit absichtlich einer Infektion ausgesetzt worden sind. Unsere Absicht bei der Anstellung der Versuche auf diesem Gute war hauptsächlich die, zu erfahren, ob die Bovovaccination Rindern Tuberkulose von dauernder Natur beibringen könnte. Wir hielten es nämlich für keineswegs unwichtig, zu versuchen, die Impfmethode auch von diesem Gesichtspunkt aus kennen zu lernen.

Da das Versuchsgut eine ganze Tagesreise von unserem Wohnort entfernt gelegen war, so schlossen wir die Impfungen im Mai 1908 ab. Sie wurden jedoch von dem Ortsveterinär fortgesetzt, da sowohl dieser als auch der Eigentümer denselben großes Interesse entgegenbrachten.

Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am				Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	16. 5.	19. 2.	7. 6.	30. 5.	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung		07	08	09	10	
343	18. 4. 04	38,9	39,3	38,5	41,0	F.	—	—	—	24. 6. 07: T.-frei
345	2. 5. "	38,5	39,0	38,7	40,7	R.	—	—	—	
347	29. 5. "	38,6	38,8	37,8	39,8	F.	F.	F.	F.	
349	6. 6. "	38,8	39,2	38,4	41,1	F.	F.	?	—	
351	17. 6. "	38,5	39,1	39,1	41,6	F.	R.	—	—	
353	9. 9. "	38,3	39,0	38,2	40,8	F.	F.	F.	F.	
355	14. 9. "	38,5	39,0	38,3	40,2	F.	F.	F.	F.	
357	19. 9. "	38,1	39,2	38,3	40,9	F.	F.	F.	—	
359	27. 10. "	38,6	39,6	38,4	41,7	F.	F.	F.	—	
361	5. 11. "	38,8	39,1	38,8	41,3	F.	—	—	—	25. 11. 07: T.-frei
363	2. 1. 05	38,9	39,2	38,6	41,2	R.	—	—	—	
365	16. 2. "	38,7	39,3	38,3	41,1	R.	—	—	—	
367	26. 2. "	38,5	39,0	38,5	41,1	F.	F.	F.	F.	
369	? 4. "	39,0	39,3	38,4	40,1	F.	F.	F.	F.	
371	19. 6. "	38,6	39,0	38,2	41,4	F.	F.	F.	F.	
373	19. 7. "	38,8	39,1	38,6	41,1	R.	R.	—	—	
375	6. 9. "	38,5	39,7	38,8	40,7	F.	F.	F.	F.	
377	29. 9. "	38,7	39,2	38,9	41,0	F.	F.	F.	F.	
379	5. 10. "	39,2	39,3	38,8	38,9	F.	F.	F.	F.	
381	9. 10. "	38,7	39,1	38,5	40,4	F.	F.	F.	F.	
383	14. 10. "	38,6	39,2	38,9	40,8	F.	F.	F.	F.	
385	15. 10. "	38,6	39,2	38,5	40,1	F.	F.	F.	F.	
387	19. 10. "	38,8	39,3	38,8	40,4	F.	F.	F.	F.	
389	7. 10. "	39,1	39,2	38,5	40,6	F.	F.	F.	F.	
391	21. 10. "	38,7	39,1	38,7	38,9	F.	F.	F.	F.	
393	26. 10. "	39,5	39,6	38,9	40,5	F.	F.	F.	F.	
395	27. 10. "	39,2	39,5	38,8	40,4	F.	F.	F.	F.	
397	30. 11. "	38,9	39,6	38,5	40,1	F.	F.	F.	F.	
399	6. 12. "	39,1	39,5	39,0	41,0	F.	F.	F.	F.	
571	6. 9. 06	38,8	39,2	38,8	39,3	—	F.	F.	F.	
573	14. 10. "	39,0	39,5	38,9	39,7	—	F.	F.	F.	
575	22. 11. "	39,5	39,5	39,0	40,6	—	F.	?	R.	
577	30. 11. "	38,1	39,1	38,8	39,2	—	F.	F.	F.	
579	5. 12. "	39,2	39,2	38,9	40,4	—	F.	F.	F.	
687	21. 2. 07	39,0	39,4	39,1	39,9	—	F.	F.	F.	
689	4. 3. "	39,4	39,9	38,8	39,1	—	F.	F.	—	
691	18. 4. "	38,7	40,1	38,7	39,6	—	F.	F.	F.	
693	19. 4. "	38,7	40,4	38,9	39,3	—	F.	F.	F.	
695	21. 4. "	38,5	39,1	39,0	39,3	—	F.	F.	F.	
707	19. 6. "	40,3	39,9	39,1	40,5	—	F.	—	—	
827	29. 8. "	39,2	39,8	38,8	41,0	—	—	F.	F.	
829	5. 9. "	39,1	39,6	38,8	39,3	—	—	F.	F.	
831	13. 9. "	39,4	40,7	—	—	—	—	—	—	

Impf.No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am		Obduktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	7. 6. 09	30. 5. 10	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung				
833	15. 9. 07	39,3	39,9	39,1	40,6	F.	F.	11.12.08: T.-frei
835	16. 9. "	39,0	39,7	38,7	40,7	F.	F.	
837	28. 10. "	39,1	39,5	38,8	40,6	F.	F.	
951	21. 11. "	38,5	39,6	38,9	40,9	F.	F.	
953	21. 11. "	39,0	39,4	39,1	40,5	—	—	
955	28. 11. "	39,0	39,5	39,2	40,3	F.	F.	
957	13. 12. "	39,2	40,3	38,7	40,1	F.	F.	
959	20. 12. "	38,9	39,5	39,4	40,7	F.	F.	

Anmerkung. Die Gruppe 343—399 vor der Impfung mit Tuberkulin geprüft und reaktionsfrei befunden.

#### Kontrolltiere.

Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am				Kontroll-No.	Geboren	Tuberkulinprobe am		
		16. 5. 07	19. 2. 08	7. 6. 09	30. 5. 10			19. 2. 08	7. 6. 09	30. 5. 10
160	4. 3. 04	R.	—	—	—	206	2. 8. 06	F.	F.	—
162	12. 4. „	R.	—	—	—	208	30. 10. „	F.	F.	F.
164	25. 4. „	R.	—	—	—	256	20. 2. 07	F.	F.	R.
166	20. 5. „	F.	F.	F.	R.	258	6. 7. ?	F.	F.	F.
168	? 6. 05	R.	—	—	—	260	13. 9. 08	F.	F.	F.
204	29. 6. 06	—	F.	?	F.					

Anmerkung. 160—168 mit Tuberkulin vor dem Beginn der Versuche geprüft und als reaktionsfrei befunden. Sie waren auch mit bei dem Rückschlag im Juni 1905.

Gruppe 343—399: 1 IE. den 8. 2. 06, 5 IE. den 3. 5. 06  
 „ 571—579: 1 „ „ 11. 2. 07, 5 „ „ 16. 5. 07  
 „ 687—695: 1 „ „ 16. 5. 07, 5 „ „ 11. 8. 07  
 „ 707 : 1 „ „ 11. 8. 07, 5 „ „ 15. 11. 07  
 „ 827—837: 1 „ „ 15. 11. 07, 5 „ „ 19. 2. 08  
 „ 951—959: 1 „ „ 19. 2. 08, 5 „ „ 19. 5. 08

#### Obduktionsergebnisse.

No. 343 wurde am 24. 6. 07 geschlachtet. Hatte nicht auf 1 IE. und nicht auf Tuberkulin am 16. 5. 07 reagiert; frei von Tuberkulose (Fröst).

No. 361 wurde am 25. 11. 07 geschlachtet. Hatte nicht auf 1 IE. und nicht auf Tuberkulin am 16. 5. 07 reagiert; frei von Tuberkulose (Fröst).

No. 953 wurde am 11. 12. 08 geschlachtet. Hatte nicht auf 1 IE. reagiert; frei von Tuberkulose (Fröst).

Auf diesem Gute haben wir 50 Tiere vollständig geimpft. Das Alter der Impftiere bei der Injektion von 1 IE. variierte zwischen 18 Tagen und 1 Jahr 10 Monaten. Besonders innerhalb der Gruppe 343 bis 399 finden sich mehrere Tiere, die sehr spät geimpft wurden; die damals geltende Instruktion für die Ausführung der Impfungen legte dem aber kein Hindernis in den Weg.

Die Anzahl der Kontrolltiere betrug 11.

#### Versuchsgut XI.

Die Jungtiere wurden mit Tuberkulin im April 1906 geprüft:

$$\frac{0+0+0}{0} + \frac{5+0+25}{30} + \frac{11+0+25}{36} = 75,8 \text{ Proz. Reaktion.}$$



Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am										Ob- duktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	3. 08	4. 08	9. 08	12. 09	7. 09	18. 09	1. 10	1. 10	6. 10	8. 11	
		der 1. Impfung		der 2. Impfung												
411	14. 8. 06	39,1	39,7	39,1	40,5	F.	F.	—	F.	F.	F.	F.	F.	F.	F.	
413	2. 9. "	39,2	39,8	39,5	41,2	F.	R.	—	—	—	—	—	—	—	—	
415	4. 10. "	38,9	39,2	39,4	40,4	F.	?	—	F.	?	F.	F.	F.	F.	F.	
417	19. 10. "	39,5	39,7	39,3	40,5	F.	R.	—	—	—	—	—	—	—	—	
419	21. 11. "	39,1	39,4	39,6	41,2	F.	R.	—	—	—	—	—	—	—	—	
581	25. 11. "	39,7	39,7	39,1	40,0	F.	R.	—	—	—	—	—	—	—	—	
583	21. 12. "	39,3	39,5	39,0	40,7	F.	F.	—	F.	—	—	F.	—	—	—	
585	23. 12. "	39,2	39,7	39,4	40,6	F.	F.	—	F.	—	—	—	—	—	—	
587	25. 12. "	39,4	39,7	38,9	39,8	F.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
589	10. 1. 07	39,2	39,6	39,2	40,8	F.	F.	—	F.	F.	F.	F.	F.	F.	F.	
591	10. 1. "	39,2	39,6	39,2	40,4	F.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
593	11. 1. "	39,0	40,0	39,0	40,3	F.	F.	—	F.	F.	F.	F.	F.	F.	F.	
595	12. 1. "	39,3	39,5	39,0	39,7	F.	F.	—	F.	F.	F.	F.	F.	F.	F.	
597	18. 1. "	38,6	39,4	38,9	40,7	F.	F.	—	F.	R.	—	—	—	—	—	
599	22. 1. "	39,2	39,8	39,4	40,8	F.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
601	27. 1. "	39,2	39,6	39,0	40,2	F.	?	—	—	—	—	—	—	—	—	
603	30. 1. "	38,7	39,7	39,2	40,5	F.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
605	1. 2. "	39,0	39,7	38,9	40,3	F.	R.	—	—	—	—	—	—	—	—	
607	2. 2. "	39,2	40,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
609	8. 2. "	39,9	41,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
739	14. 6. "	39,2	39,5	39,2	39,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
741	26. 5. "	39,1	39,3	39,2	40,8	—	F.	—	F.	F.	F.	F.	F.	F.	F.	
743	30. 9. "	38,9	39,3	38,9	40,0	—	—	—	F.	F.	F.	F.	F.	F.	F.	
745	8. 2. 06	39,0	39,2	39,2	39,1	—	F.	F.	?	F.	F.	F.	F.	F.	F.	
747	12. 8. 07	39,2	39,6	38,8	40,3	—	R.	—	—	—	—	—	—	—	—	
749	21. 1. 06	38,6	38,9	39,3	39,3	—	F.	—	F.	F.	F.	F.	F.	F.	F.	
751	20. 2. "	38,9	39,4	39,2	40,7	—	R.	—	—	—	—	—	—	—	—	
753	12. 9. 07	38,8	39,4	39,3	40,2	—	—	—	F.	?	—	—	—	—	—	
755	27. 8. "	39,3	39,6	39,3	40,0	—	R.	—	—	—	—	—	—	—	—	
757	19. 7. "	39,3	39,5	39,1	39,6	—	F.	—	F.	F.	F.	F.	F.	F.	F.	
849	23. 10. "	38,9	40,1	38,2	40,7	—	—	—	F.	F.	F.	F.	F.	F.	F.	
851	30. 10. "	38,8	39,3	39,1	40,9	—	F.	—	—	—	—	—	—	—	—	
853	27. 10. "	38,9	39,4	38,8	40,7	—	F.	F.	F.	—	—	—	—	—	F.	
855	27. 8. "	39,1	39,4	38,7	41,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
857	20. 10. "	39,3	40,0	38,5	41,0	—	—	—	—	F.	F.	F.	F.	F.	—	
859	20. 10. "	39,2	39,8	39,2	40,8	—	—	—	—	R.	R.	F.	F.	F.	F.	
861	30. 10. "	39,1	39,7	40,0	41,0	—	—	—	—	F.	R.	F.	F.	F.	F.	
863	4. 10. "	38,7	39,3	38,5	40,7	—	—	—	—	—	F.	—	—	—	—	
865	2. 10. "	38,8	39,3	38,4	40,0	—	—	—	—	—	F.	—	—	F.	F.	
867	30. 12. "	39,5	39,5	38,7	40,4	—	—	—	—	—	F.	—	—	—	—	
869	24. 11. "	39,0	39,8	38,9	40,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
871	17. 12. "	37,9	39,4	38,9	40,9	—	F.	F.	—	—	—	—	—	—	—	
873	4. 1. 08	38,7	39,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
875	15. 12. 07	39,0	39,6	38,3	40,7	—	—	—	—	—	F.	F.	F.	F.	—	
877	25. 12. "	39,2	39,9	39,5	41,1	—	—	—	—	—	?	—	—	—	—	
051	31. 1. 08	38,7	39,7	38,7	41,4	—	—	—	—	—	F.	F.	F.	F.	F.	
053	25. 1. "	38,7	39,4	39,0	40,6	—	—	—	—	—	R.	—	—	—	—	
055	3. 3. "	39,1	39,6	38,8	40,9	—	—	—	—	—	F.	F.	F.	R.	—	
057	1. 3. "	38,8	39,6	39,0	40,5	—	—	—	—	—	R.	—	—	—	—	
059	26. 1. "	39,0	39,8	39,1	40,9	—	—	—	—	—	F.	R.	—	—	—	
061	21. 3. "	39,8	40,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
063	26. 2. "	38,5	40,0	39,3	40,3	—	—	—	R.	—	—	—	—	—	—	
065	21. 3. "	38,6	39,8	38,8	40,7	—	—	—	F.	F.	F.	—	—	—	—	
067	27. 2. "	38,9	39,6	39,7	40,7	—	—	—	F.	—	—	—	—	—	—	
069	3. 5. "	38,7	39,6	39,0	40,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
071	8. 6. "	38,7	39,7	38,8	40,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
073	16. 5. "	38,6	40,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
075	27. 12. 07	39,0	39,7	39,2	41,4	—	—	—	—	—	F.	F.	F.	F.	F.	

April 08:  
T.-frei

Impf-No.	Geboren	Temperatur				Tuberkulinprobe am					Ob- duktion
		vor	höchste nach	vor	höchste nach	7. 7.	18. 11.	1. 6.	8. 11.	8. 6.	
		der 1. Impfung	der 2. Impfung	der 1. Impfung	der 2. Impfung	09	09	10	10	11	
077	18. 1. 08	40,2	40,8	—	—	—	—	—	—	—	
079	12. 12. 07	39,4	39,9	39,1	41,1	—	F.	F.	F.	F.	
081	20. 12. „	39,2	39,7	38,9	40,7	—	F.	F.	F.	F.	
083	29. 1. 08	39,4	39,7	39,6	42,2	F.	—	—	—	—	
085	12. 1. „	39,4	39,9	39,2	41,5	—	F.	R.	—	—	
087	28. 11. 07	39,4	39,8	39,6	40,3	—	F.	—	F.	F.	
089	3. 1. 08	38,3	39,4	38,7	40,8	R.	—	—	—	—	
0175	7. 6. „	38,8	39,2	38,7	—	—	—	—	—	—	
0177	20. 11. „	39,1	40,0	39,0	—	—	F.	—	—	F.	
0179	22. 11. „	38,9	39,5	38,9	—	—	—	—	—	F.	
0181	9. 11. „	39,0	39,3	39,2	—	—	—	—	—	—	
0183	27. 11. „	38,8	39,2	39,0	—	—	—	—	—	—	
0185	30. 5. „	39,3	38,7	38,9	—	—	—	—	—	—	
0187	19. 9. „	38,8	38,7	38,2	—	—	—	—	—	—	
0189	18. 9. „	38,3	39,1	38,6	—	—	—	—	—	—	
0191	4. 10. „	39,2	40,0	38,7	—	—	—	—	—	—	
0193	30. 9. „	39,0	40,6	—	—	—	—	—	—	—	
0195	19. 10. „	39,0	39,1	38,9	—	—	—	—	—	—	
0197	15. 10. „	39,1	39,8	39,0	—	—	F.	—	—	F.	
0199	6. 10. „	39,2	39,7	38,6	—	—	F.	—	—	—	
0201	21. 11. „	38,8	39,7	39,0	—	—	—	—	—	—	
0203	28. 11. „	38,9	39,0	—	—	—	—	—	—	—	

## Kontrolltiere.

Kontroll- No.	Geboren	Tuberkulinprobe am					
		3. 4. 08	9. 12. 08	18. 11. 09	1. 6. 10	8. 11. 10	8. 6. 11
176	2. 7. 06	F.	F.	—	—	—	—
210	25. 3. „	F.	F.	F.	F.	F.	F.
262	12. 3. 07	F.	F.	F.	—	F.	—
264	26. 3. „	F.	F.	F.	F.	F.	F.
284	14. 12. 05	—	F.	—	—	—	—
286	15. 3. 06	—	—	—	—	—	—
308	30. 12. 07	—	—	F.	F.	F.	F.
310	29. 12. „	—	—	F.	F.	F.	F.
312	3. 1. 08	—	—	—	F.	?	—
358	3. 5. „	—	—	R.	—	—	—
360	24. 1. „	—	—	R.	—	—	—
362	30. 5. „	—	—	F.	F.	F.	R.
364	1. 7. „	—	—	F.	F.	F.	F.
390	24. 11. „	—	—	—	—	—	F.

Gruppe 411—419: 1 IE. den 26. 11. 06, 5 IE. den 26. 2. 07  
 „ 581—609: 1 „ „ 26. 2. 07, 5 „ „ 24. 5. 07  
 „ 739—757: 1 „ „ 14. 10. 07, 5 „ „ 9. 1. 08  
 „ 849—877: 1 „ „ 9. 1. 08, 5 „ „ 2. 4. 08  
 „ 051—089: 1 „ „ 5. 9. 08, 5 „ „ 1. 12. 08  
 „ 0175—0203: 1 „ „ 1. 12. 08, 5 „ „ 27. 2. 09

Die Versuchstiere wurden in einem auf einem Vorwerk belegenen Kälberstall mit in einer benachbarten Molkerei mit Dampf gekochten Milch aufgezogen. Ein besonderer Wärter war für sie angestellt. Aus dem Kälberstall wurden die Tiere dann nach und nach in einen größeren, auf demselben Vorwerk belegenen Stall gebracht, der vorher für tuberkulöse Tiere benutzt, danach aber gründlich gereinigt und desinfiziert worden war.

Indessen hatte dieser Versuch gegen unseren Willen dasselbe Schicksal wie der auf dem Versuchsgut VII. Denn als es zur Entscheidung kam, wollte der Eigentümer, entgegen der Abrede, die Versuchstiere nicht mit dem tuberkulösen Bestande auf dem Hauptgut vereinigen. Sie wurden demnach bei keiner Gelegenheit absichtlich einer Ansteckung ausgesetzt, sondern im Gegenteil auf alle Weise davor geschützt.

Hier sind 72 Tiere vollständig geimpft worden, aber nur 58 von ihnen wurden mit Tuberkulin geprüft und nur ein Tier wurde obduziert. Bei anderen Tieren, die geschlachtet wurden oder starben, erhielten wir keine Gelegenheit zur Obduktion. Das Alter der Impftiere bei der ersten Impfung variierte zwischen 4 Tagen und 1 Jahr 9 Monaten.

### **Einige allgemeine Bemerkungen zu den Impfprotokollen.**

Ein Vergleich zwischen diesen und den entsprechenden Protokollen in unserem vorhergehenden Bericht zeigt zunächst einen bestimmten Unterschied in dem Verhalten der Impftiere gegen die erste Impfdosis bezüglich der Thermoreaktion. So erhielten wir bei unseren Impftieren in der ersten Versuchsreihe Thermoreaktion in 53 von 155 Fällen, d. h. in 32,3 Proz.; bei der vorliegenden Versuchsreihe dagegen trat eine solche Reaktion in 101 von 475 Fällen, d. h. in 21,3 Proz. ein. Der Unterschied ist ja nicht gering, gleichwohl aber nicht so groß, wie man zu erwarten Anlaß gehabt hätte, da Maßnahmen fortgeführt werden sollten, um die Kälber vor Ansteckung durch die Milch zu schützen. Das Verhältnis scheint uns eine Illustration dafür abzugeben, mit welchen Schwierigkeiten es verbunden ist, Versuche der fraglichen Art auf Landgütern anzustellen, sogar wenn sie, wie es hier der Fall gewesen ist, mit Rücksicht darauf gewählt werden, daß die bestmöglichen Resultate erhalten werden. Indessen dürfte zu betonen sein, daß auf den Versuchsgütern, wo Schutzmaßregeln gegen Tuberkulose nach Bangs Methode unterhalten wurden (VII und XI), nur 7 von 129 Tieren als auf 1 IE. reagierend angesehen wurden.

Das fragliche Reaktionsverhältnis brachte es mit sich, daß eine ganze Reihe von Tieren nach der ersten Impfung von den Versuchen ausgeschlossen und von jeder Berührung mit den Versuchstieren entfernt werden mußten, solange diese gegen Infektion geschützt gehalten wurden. Denn jetzt wie früher erachteten wir es für berechtigt, die Thermoreaktion nach 1 IE. als Ausdruck der Gegenwart von Tuberkulose bei dem Tiere zu deuten.

2 Tiere gingen uns direkt durch die Impfung verloren. No. 0105 auf dem Versuchsgut III starb 3 Stunden nach der Injektion von 1 IE. unter Symptomen von Blutung aus der Nase, Atemnot, Meteorismus und 42° C Rektaltemperatur. Bei der Obduktion erwies sich der Pyramidenlappen der rechten Lunge als an der Pleura diaphragmatica festgewachsen; er enthielt eine tuberkulöse Kaverne von doppelter Faustgröße; die hintere Mediastinaldrüse war beträchtlich vergrößert (tuberkulöse — teilweise verkalkte — Hyperplasie). No. 679 starb 6 Stunden nach 5 IE. unter Erstickungssymptomen.

Betreffs des Verhaltens der Impftiere gegen die zweite Impfdosis zeigen diese Protokolle, gleich unseren früheren, daß Reaktion so gut wie regelmäßig auf sie erfolgt. Von 391 Tieren, für welche die Temperatur nach 5 IE. aufgezeichnet ist, reagierten 338. In der Regel steht also das Tier unter dem Einflusse der ersten Impfdosis zur Zeit der Injektion der zweiten, die in unseren Versuchen regelmäßig 3 Mo-

nate nach 1 IE. stattgefunden hat. Hierdurch erhält die Reaktion nach 5 IE. ihre Erklärung. Es dürfte Erwähnung verdienen, daß die fragliche Reaktion gewöhnlich ungefähr 5 Stunden nach der Injektion eintritt, und daß man beim Messen den höchsten Temperaturgrad öfter am Impftage als am Tage danach erhält.

Der Infektionszustand, der dem Tiere mit der Injektion von 5 IE. erteilt wird, bleibt in der Regel nicht viel länger bestehen als der durch 1 IE. hervorgerufene — d. h. 3—4 Monate. Wie aus unseren Impfprotokollen hervorgeht, haben wir in verschiedenen Fällen die erste Tuberkulinprobe ziemlich rasch auf die zweite Impfdosis folgen lassen. So z. B. wurde die Gruppe 617—625 auf dem Versuchsgut I und die Gruppe 0395—0409 auf dem Versuchsgut XV 5 Monate nach 5 IE. mit Tuberkulin geprüft, und auf dem letzteren Gut die Gruppe 709—715 sogar schon 3 Monate nach der genannten Impfdosis. Sämtliche Tuberkulinprüfungen ergaben negatives Resultat. In ein paar Fällen versuchten wir die Tuberkulinprobe noch näher an 5 IE. heranzurücken, erhielten dann aber im allgemeinen positive Reaktion. Wenn demnach Römer empfiehlt, die erste Tuberkulinprobe nicht vorzunehmen, bevor ein Jahr nach vollendeter Bovovaccination verstrichen ist, um dadurch einer Fehl-diagnose zu entgehen, und Eber diese Zeit auf 9 Monate verkürzt, so meinen wir, daß man ohne Gefahr die fragliche Tuberkulinprobe 5—6 Monate nach 5 IE. anstellen lassen kann. Reagiert das Tier dann, so ist dies ein Zeichen dafür, daß es unter dem Einfluß einer natürlichen Tuberkuloseinfektion steht. Die Sache ist von nicht geringer praktischer Bedeutung, da es als sowohl hygienisch wie ökonomisch wichtig angesehen werden muß, daß ein so infiziertes Tier so früh als möglich entdeckt wird.

Die Impfprotokolle zeigen ferner, daß wir nur selten in der Lage gewesen sind, unsere Versuchstiere zu obduzieren. Obwohl wir 10—25 Kronen für jedes Versuchstier bezahlten, das zur Obduktion angemeldet und obduziert wurde, blieb dieses Angebot doch immer wieder von den Tiereigentümern unbeachtet. Von einer Entschädigung im eigentlichen Sinne für die geschlachteten Tiere konnte ja nicht die Rede sein, da wir den Zeitpunkt des Schlachtens in keiner Weise bestimmten, sondern dieses nur vorgenommen wurde, wenn mit den Impfversuchen nicht zusammenhängende Verhältnisse dazu nötigten. Hieraus folgt, daß wir bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse der Hauptsache nach uns an den Ausfall der Tuberkulinproben halten müssen, und wir sind nun wie früher der Ansicht, daß praktisch genommen auch bezüglich bovovaccinierter Rinder das positive Resultat einer Tuberkulinprobe das Vorhandensein von Tuberkulose angibt und umgekehrt.

In einem Referat an den 9. internationalen Veterinärkongreß im Haag 1909, betreffs Impfung von Rindern gegen Tuberkulose, erwähnt Eber unter anderem unsere ersten Versuche mit Bovovaccinierung. Er sagt darin, daß er im großen und ganzen die Auffassung teile, zu der wir damals betreffs Bovovaccination von gegen natürliche Tuberkuloseinfektion nicht geschützten Kälbern gelangt waren; er kann aber nicht ohne weiteres unserer Ansicht beitreten, daß der negative Ausfall einer Tuberkulinprobe an bovovaccinierten Rindern ein Beweis für die Abwesenheit tuberkulöser Herdbildung ist. Die näheren Gründe

1) Eber, Schutzimpfungsverfahren bei der praktischen Bekämpfung der Rindertuberkulose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. No. 5 u. 6.)

hierfür hat Eber in einem früheren Aufsatz<sup>1)</sup> (1907) entwickelt, worin unter anderem auf 3 bovovaccinierte Rinder verwiesen wird, die eine kurze Zeit vor dem Schlachten nicht auf Tuberkulin reagiert hatten, von denen aber doch 2 mit Tuberkulose behaftet waren. Wir wollen in diesem Zusammenhange nicht näher auf diesen Fall eingehen, sondern verweisen statt dessen auf unsere Obduktionsprotokolle, die älteren sowohl wie die neueren. In sämtlichen 10 Fällen (7, 91, 115 in unserem früheren Bericht, 619, 919, 921, 019, 453, 343 und 361 in diesem), wo bovovaccinierte und auf Tuberkulin nicht reagierende Rinder einer Obduktion unterzogen worden sind, hat Tuberkulose nicht nachgewiesen werden können. Was No. 803 betrifft, so wurde bei demselben zwar Tuberkulose beim Schlachten angetroffen, obwohl das Tier nicht auf Tuberkulin am 14. April 1910 reagiert hatte; die Obduktion wurde aber nicht eher als  $\frac{1}{2}$  Jahr danach vorgenommen. Ohne allen Zweifel hatte es sich nach dem genannten Zeitpunkt infiziert, und die Obduktionserscheinungen — kleinere tuberkulöse Herde in den Bronchial- und Mediastinaldrüsen — sprechen nicht gegen eine solche Annahme.

Trotz der oben angeführten Obduktionsresultate haben wir uns vorsichtig bezüglich ihrer Tragweite ausgesprochen, indem wir uns nur praktisch genommen berechtigt zu unserer Betrachtungsweise betreffs der Anwendbarkeit der Tuberkulinprobe zur Kontrollierung des Resultats der Bovovaccination angesehen haben. Dies gilt indessen nicht nur für den negativen Ausfall der Tuberkulinprobe, sondern auch für den positiven, und ist nicht dadurch veranlaßt, daß es sich hier um vorbehandelte Tiere handelt, sondern durch die allgemeinen Mängel des Tuberkulins in gewissen Fällen. Daß diese sich auch bezüglich bovovaccinierter Tiere geltend machen können, haben wir eben durch die oben erwähnte reservierte Bemerkung einräumen wollen, die angezogenen Obduktionsresultate aber, und auch diejenigen, die sich auf reagierende bovovaccinierte Tiere beziehen, scheinen uns keine Stütze für die Ansicht abzugeben, daß die erwähnten Mängel irgendwie mehr bezüglich bovovaccinierter als bezüglich nicht vorbehandelter Tiere hervorträten.

### Versuchsergebnisse.

Bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse können wir selbstverständlich nicht unterlassen, sie im Lichte unserer Erfahrungen aus einem 15-jährigen, täglichen Kampfe gegen die Rindertuberkulose nach Bangs Methode zu betrachten. Diese Methode hat nämlich auch das Gute an sich, daß sie in hohem Grade die Kenntnis von der Tuberkulose in epizootischer Hinsicht vertieft. Bevor wir also zu einer näheren Analyse der Versuchsergebnisse übergehen, erachten wir es für notwendig, ein paar Gesichtspunkte darzulegen, die dabei für uns leitend sein werden.

Der Umstand, daß ein Rinderbestand tuberkulös ist, schließt nicht mit Notwendigkeit in sich ein, daß er bei jeder Gelegenheit ein Tier mit Tuberkulose in ansteckender Form darbietet. Recht oft trifft es sogar ein, daß ein Bestand ein sehr hohes Reaktionsprozent aufweist, ohne daß ein derartiges Tier innerhalb desselben vorhanden ist. Dies bedeutet, daß eine Ansteckungsquelle auf den Bestand eingewirkt hat, daß das oder die ansteckenden Tiere aber aus dem Stall entfernt worden sind. Es kann danach eine sehr lange Zeit, mehrere Jahre, dauern, ehe ein neuer Infektionsträger innerhalb des Bestandes auftritt. Vorausgesetzt, daß indirekte Ansteckung (z. B. durch Meiereimilch) ausgeschlossen ist, sinkt solchenfalls die Morbiditätsziffer in dem Maße, wie ältere tuber-

kulöse Tiere abgehen und nicht angesteckte Kälber und Jungtiere hinzukommen. Dann tritt plötzlich ein neuer Infektionsträger, vielleicht mehrere, innerhalb des Bestandes auf, und die Morbiditätsziffer springt binnen kurzer Zeit zu ihrer früheren Höhe, vielleicht noch höher, hinauf. Ein solcher Verlauf der Krankheit kann sehr leicht durch Tuberkulinuntersuchungen verfolgt werden.

Stellen wir uns nun vor, daß gegen Tuberkulose geimpfte Kälber in einen tuberkulösen Bestand während der Zeit eingestellt werden, wo Stillstand in der eben geschilderten Weise bezüglich der Verbreitung der Tuberkulose innerhalb des Bestandes herrscht, so werden sie natürlich keiner Ansteckung ausgesetzt. Würden sie dann während derselben Zeit mit Tuberkulin geprüft, so wäre es also nicht richtig, aus dem negativen Resultate der Probe zu schließen, daß ein Impfschutz gewirkt hat, eventuell solche Tiere in eine statistische Berechnung über den Wert der Impfmethode eingehen zu lassen.

Aber auch in dem Falle, daß ein tuberkulöser Bestand ein Tier mit offener Tuberkulose enthält, ist es nicht gesagt, daß ein in diesen eingestelltes geimpftes Tier unter allen Verhältnissen in die Lage kommt, sich zu infizieren. Denn dazu ist im allgemeinen erforderlich, daß das geimpfte Tier in Reichweite für das ansteckende Tier kommt. Die Verbreitung der Ansteckung im Stalle geht nämlich in den meisten Fällen — z. B. bei offener Lungentuberkulose, der gewöhnlichst vorkommenden ansteckenden Form der Krankheit — in der Weise vor sich, daß zuerst die Tiere rechts und links und vor dem ansteckenden Tiere angesteckt werden, und danach jedes Tier, das in die Nähe desselben gebracht wird, oder das es als Nachbar annehmen muß. Die Resultate, die man bei Untersuchungen mit Tuberkulin erhält, liefern überreichliche Beweise für die Richtigkeit dieser Behauptung.

Wir gehen indessen weiter. Es trifft oft ein, daß eine Untersuchung mit Tuberkulin das Resultat ergibt, daß Reaktion überhaupt nicht unter den Kälbern vorkommt, auch nicht unter den Färsen oder wenigstens in einem sehr geringen Prozentsatz, daß aber dagegen die älteren Tiere in beträchtlicher Anzahl reagieren. Es bedeutet dies, daß die Ansteckung dem Bestande nicht durch die Milch zugeführt wird. Die Möglichkeit dafür, daß in diesem Falle das Jungvieh einer Ansteckung ausgesetzt wird, tritt erst zu dem Zeitpunkt ein, wo es mit dem milchenden Stamm an denselben Futtertisch zusammengebracht wird, und solange das Jungvieh noch nicht diesem Stamme einverleibt ist, sondern, wie es gewöhnlich geschieht, in einer Gruppe für sich, der Jungviehgruppe, gehalten wird, ist die Gefahr einer Ansteckung für dasselbe jedenfalls bei weitem nicht in so hohem Grade vorhanden, als wenn sie als frischmilchende Färsen ihre Rundwanderung unter den Kühen beginnen. Werden nun die Kälber in einem solchen Bestande geimpft und mit Tuberkulin passende Zeit danach geprüft, so darf man nicht aus dem negativen Untersuchungsergebnisse den Schluß ziehen, daß die Impfung dasselbe herbeigeführt hat.

Wir haben mit dem Vorstehenden die Wichtigkeit davon betonen wollen, daß man bei der Beurteilung der Effektivität einer Impfmethode soweit als möglich klarstellt, ob die geimpften Tiere während der Immunitätsperiode wirklich einer Ansteckungsgefahr ausgesetzt gewesen sind. Wir haben betreffs verschiedener in der Literatur angegebener Impfversuche die Auffassung erhalten, daß bei weitem nicht für alle bei den Versuchen verwendeten

Tiere der genügende Beweis dafür erbracht ist, daß sie spontaner Ansteckung ausgesetzt gewesen sind.

Schließlich ist noch eine Erklärung bezüglich unseres Verfahrens bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse notwendig.

Es könnte scheinen, als wenn die Versuche so hätten angeordnet werden sollen, daß jedes Versuchstier einer Prüfung mit Tuberkulin, unmittelbar bevor es in den infizierten Stallbestand eingestellt wurde, unterzogen wurde. Abgesehen davon aber, daß ein solches Verfahren mit unüberwindlichen Schwierigkeiten verknüpft gewesen wäre, unter anderem bedingt durch die mangelhafte Berichterstattung seitens der Versuchsgüter, so glauben wir noch einmal betonen zu müssen, daß wir die Impfungen so ausführen wollten, wie sie ausgeführt werden würden, wenn sie eine allgemeine Anwendung in der Praxis erhielten. Um dennoch andererseits den Charakter der Impfungen als Versuche aufrechtzuerhalten, schien es uns notwendig, bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse von allen den Tieren abzusehen, die bei der ersten Tuberkulinprobe nach vollendeter Impfung reagiert hatten. Denn da der Impfschutz nach Angabe des Erfinders im Organismus erst ungefähr 3 Monate nach der Injektion von 5 IE. fertiggebildet ist, so ist es nicht ausgeschlossen, daß einige von den Versuchstieren sich eine Stallinfektion während der Impfperiode, gerechnet von dem Zeitpunkt der Injektion von 1 IE. bis 3 Monate nach 5 IE., also 6 Monate umfassend, haben zuziehen können. Durch die erwähnte Maßregel wird die Anzahl der Impftiere auf 210 reduziert, worin jedoch nicht die Tiere auf den Gütern VII und XI eingerechnet sind. Diese standen nämlich unter so streng durchgeführten Schutzmaßregeln nach Bangs Methode, daß wir es nicht für gerechtfertigt erachteten, bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse auf diesen Gütern Versuchstiere auszuschließen. Selbstverständlich wird auch die Anzahl der Kontrolltiere nach demselben Prinzip reduziert und beträgt demnach 56.

Die Tiere, die gemäß dieser Reduktionsregel bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse in Frage kommen, sind in den Protokollen mit fatter Nummer bezeichnet.

Sehen wir nun zu, wie die beiden Gruppen, Impftiere und Kontrolltiere, sich gegenüber der Tuberkulinprobe oder bei Obduktion oder bei beiden Gelegenheiten, nachdem sie in infizierte Bestände eingestellt worden, verhalten haben, so finden wir, daß von 210 Impftieren 48 reagiert bzw. beim Schlachten sich als mit Tuberkulose behaftet erwiesen haben. Dies macht einen Verlust bei der Impftiergruppe von 22,9 Proz. aus. Der gleiche Verlust bei der Kontrolltiergruppe beträgt 28 von 56 oder 50 Proz. Der Unterschied ist so wesentlich, daß er zu einer näheren Untersuchung zwingt, denn ohne eine solche halten wir es nicht für erlaubt, den Schluß zu ziehen, daß die Impfungen ihn verursacht haben. Zu diesem Zweck ist es indessen notwendig, die Versuchsergebnisse auf jedem Versuchsgut einzeln durchzugehen.

Auf dem Versuchsgut I besteht das Material, das der oben angegebenen Reduktionsregel gemäß Gegenstand der Beurteilung werden kann, aus 52 Impf- und 8 Kontrolltieren. Betrachten wir die beiden Impfgruppen 479–625 im Zusammenhang, so finden wir, daß keines von diesen Tieren bei der Tuberkulinprobe am 31. Oktober 1907, d. h. 8 bis 5 Monate nach der Injektion von 5 IE., reagierte. Aber auch das einzige an dieser Probe teilnehmende Kontrolltier 218 reagierte nicht.



Da diese Tiere in den infizierten Stall im Herbst 1907 eingestellt worden waren, waren sie wahrscheinlich zu dem obenerwähnten Zeitpunkt noch keiner Ansteckung ausgesetzt gewesen, oder es ist auch möglich, daß der Stall zufälligerweise kein Tier mit Tuberkulose in offener Form beherbergte. Wir verfolgen indessen die beiden Impfgruppen weiter.

Am 11. Januar 1909, also 14 Monate 11 Tage nach der ersten Tuberkulinprobe und bzw. 22 Monate 7 Tage und 19 Monate 11 Tage nach 5 IE., werden die Tiere mit Ausnahme von 619, das vorher geschlachtet worden war, wiederum mit Tuberkulin geprüft. Nun reagieren sämtliche Impftiere und auch das Kontrolltier 218. Das Kontrolltier 266, das gleichzeitig untersucht wurde und nicht reagierte, stand auf einem anderen Gut und gehörte demnach nicht zu der fraglichen Tiergruppe.

Was war nun die Ursache dieses Resultats? Klar ist, daß zwischen den beiden Tuberkulinproben eines oder mehrere Tiere in dem infizierten Bestande sich als Ansteckungsverbreiter geltend gemacht haben. Wann dies eingetroffen, ist unmöglich zu entscheiden, das Obduktionsresultat beim Schlachten am 26. Mai 1908 von 619 scheint aber anzudeuten, daß es noch nicht zu jenem Zeitpunkt eingetroffen war, da 619 sich als frei von Tuberkulose erwies. Jedenfalls beweist die Tuberkulinprobe, daß sämtliche Versuchstiere einer Ansteckung ausgesetzt gewesen und auch angesteckt worden sind. Wenn wir indessen von der Annahme ausgehen, daß sie nicht vor dem 26. Mai 1908 infiziert worden sind, so waren sie zu diesem Zeitpunkt bzw. 14 Monate 22 Tage und 11 Monate 26 Tage geimpft gewesen, weshalb im ersteren Falle der Impfschutz nahezu zu Ende war, und im letzteren Falle nur 3 Monate von seiner Aktivität übrig waren. Römer<sup>1)</sup>, unter anderen, betont nämlich, daß die durch die Bovovaccination hervorgerufene Immunität in vielen Fällen bereits nach einem Jahre verschwunden ist. Unter solchen Verhältnissen erscheint es also möglich, daß die Impftiere angesteckt worden sind, nachdem die Immunität aufgehört hat wirksam zu sein.

Die Tiergruppe, von der eben die Rede gewesen, ist unseres Erachtens besonders lehrreich für die Frage nach der Bedeutung der Bovovaccination, und wenn wir nun unsere Interpretation des Verhaltens der verschiedenen Impfgruppen gegenüber der Tuberkulinprobe fortsetzen, so geschieht es, um zuzusehen, ob unser übriges Versuchsmaterial den von den Gruppen 479—625 erhaltenen Eindruck bestärkt oder möglicherweise schwächt.

Die nächste Impfgruppe auf diesem Versuchsgut besteht aus 789—803, zusammen 6 Tieren. Diese wurden mit Tuberkulin das erste Mal nach 5 IE. gleichzeitig mit der zweiten Tuberkulinprobe für die Gruppen 479—625 untersucht, wobei das Resultat das völlig entgegengesetzte war: keines von den Tieren reagierte. Es ist jedoch zu beachten, daß diese Tiere nebst dem Kontrolltier auf einem anderen Vorwerk standen als die letztgenannten beiden Gruppen. Wahrscheinlich war zufälligerweise keine Ansteckungsmöglichkeit vorhanden gewesen (das Kontrolltier 266 reagierte auch nicht). Da indessen die Tuberkulinprobe während der Immunitätsperiode (11 Monate 11 Tage nach 5 IE.) eintraf, kann das Ausbleiben der Reaktion bei den Impftieren auch so gedeutet werden, daß die Immunität sich geltend gemacht hat, und daß das

1) Römer, Tuberkulosevaccin. (Kraus u. Levaditi, Handb. d. Techn. u. Method. d. Immunitätsforsch. Ergänzungsbd. I. 1911. p. 325.)



Kontrolltier 266 keine Gelegenheit gehabt hat sich zu infizieren. Andererseits zeigte es sich die ganze Zeit über, daß die Ansteckungsverhältnisse auf dem fraglichen Vorwerk nicht so schlimm waren wie auf dem Vorwerk, auf dem 479—625 standen.

Die zweite Tuberkulinprobe an der Gruppe 789—803 wurde am 14. Oktober 1909, d. h. 9 Monate 3 Tage nach der ersten und 20 Monate 14 Tage nach 5 IE. vorgenommen. Nun ist die Immunität offenbar verschwunden, da Reaktionen unter den Geimpften vorkamen (797 und 801). Die 3 an derselben Tuberkulinprobe teilnehmenden Kontrolltiere 326, 342 und 344 erwiesen sich als reaktionsfrei. In diesem Umstande gleichwie auch in der Tatsache, daß das Kontrolltier 266 beim Schlachten am 5. Mai 1909 frei von Tuberkulose war, können wir natürlich nichts zugunsten der Impfungen, aber auch nichts zu ihrem Nachteil Sprechendes erblicken. Die Reaktionsverhältnisse innerhalb der Versuchsgruppe zeigen ganz einfach, daß die Infektionsmöglichkeiten nicht groß gewesen sind, und daß zufälligerweise 2 Impftiere das Schicksal gehabt haben, einer Ansteckung ausgesetzt zu werden. Diese hätte ebenso gut 2 Kontrolltiere haben treffen können, in welchem Falle die Reaktionsverhältnisse offenbar den nun vorliegenden entgegengesetzt ausgesehen hätten, und ein weniger kritisches Verfahren bei der Beurteilung dieser Reaktionsverhältnisse hätte sich dadurch wohl zu dem Schlusse hinführen lassen, daß ein Impfschutz wirksam gewesen sei.

Bei der dritten Tuberkulinprobe am 14. April 1910 reagiert keines der übriggebliebenen Versuchstiere, 4 Impf- und 3 Kontrolltiere, im Herbst desselben Jahres erweisen sich aber beim Schlachten eines der Impftiere und eines der Kontrolltiere als tuberkulös, und bei der vierten Tuberkulinprobe am 6. April 1911 reagieren eines der ersteren und zwei der letzteren.

Die drei folgenden Impfgruppen umfassen 919—025 oder 13 Impftiere. Die erste Tuberkulinprobe fällt hier mit der zweiten Probe der nächstvorhergehenden Gruppe zusammen und resultierte darin, daß kein Tier reagierte. Sie waren geimpft seit bzw. 17 Monaten 15 Tagen, 14 Monaten 23 Tagen und 11 Monaten 24 Tagen, und sie hatten auf demselben Vorwerk wie die vorhergehende Gruppe ungefähr 2 Monate lang gestanden. Es ist kaum anzunehmen, daß ein Impfschutz die Ursache für den Ausfall dieser Tuberkulinprobe bildete, denn das Verhalten der obenerwähnten Kontrollkälber gegenüber derselben Probe und der relativ günstige Ausfall derselben in der Gruppe 789—803 sprechen dafür, daß die Tiere keiner Stallinfektion ausgesetzt gewesen sind. Bei der zweiten Tuberkulinprobe für die Gruppen 919—025 am 14. April 1910 reagierte keines der übrig gebliebenen 12 Impftiere (019 war am 14. Februar 1910 geschlachtet und tuberkelfrei befunden worden); auch reagierten die beiden neuen an dieser Probe teilnehmenden Kontrolltiere 418 und 420 nicht. Die Impftiere 919 und 921 wurden im Herbst desselben Jahres geschlachtet und waren frei von Tuberkulose. Bei der dritten Tuberkulinprobe dagegen am 6. April 1911 ging 017 infolge Reaktion verloren, desgleichen auch die ebengenannten Kontrolltiere, wohingegen das Kontrolltier 432 nicht reagierte.

Vereinigt man die 4 Gruppen 789—025, so zeigt es sich, daß 6 Impftiere im Laufe der Jahre bis zum 6. April 1911 tuberkulös wurden, nämlich 797, 799, 801, 803, 929 und 017. Von den Kontrolltieren wieder wurden 5 infiziert, nämlich 326, 342, 344, 418 und 420. Nach dem letztgenannten Zeitpunkt reagierte kein Versuchstier mehr auf

diesem Versuchsgut. Die letzte Tuberkulinprobe wurde am 6. Juni 1912 ausgeführt.

Die übrigen Impfgruppen bieten nichts von Interesse über das bereits Gesagte hinaus dar.

Aus den Versuchsergebnissen auf Gut I scheint uns hervorzugehen, daß, wenn ein Schutz gegen natürliche Tuberkuloseinfektion wirklich mittels der Bovovaccination bewirkt wird — einen stringenten Beweis dafür liefern die Resultate nicht — derselbe kaum länger als 1 Jahr dauert. Im übrigen ist es klar, daß die Impfungen keinen augenfälligen Vorteil für dieses Gut mit sich brachten. Nach den letzten Impfungen ging man von selber zur Bekämpfung der Tuberkulose nach Bangs Verfahren über und verfügte im April dieses Jahres über 142 reaktionsfreie und 100 reagierende Tiere.

Das Material, das bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse auf dem Versuchsgut III in Betracht kommen kann, besteht aus 33 Impf- und 14 Kontrolltieren. Von den ersteren fielen 6 allmählich bei den Tuberkulinproben aus, d. h. 18,2 Proz., von den letzteren 5 oder 35,7 Proz.

Bei einer Untersuchung der Verhältnisse innerhalb der verschiedenen Gruppen zeigt es sich hinsichtlich der beiden ersten Impfgruppen 441 bis 643, zusammen 16 Tieren, daß keines von diesen bei der ersten Tuberkulinprobe am 28. Jan. 1908 reagierte. Diese Probe traf bzw. 10 Monate 22 Tage und 7 Monate 25 Tage nach der Injektion von 5 IE. ein, demnach in beiden Fällen während der Immunitätsperiode. Die 5 an derselben Tuberkulinprobe teilnehmenden Kontrolltiere reagierten auch nicht. Wir können dieses Verhältnis nicht anders deuten, als daß es in den tuberkulösen Stallbeständen, in welchen sämtliche 21 Versuchstiere gestanden haben, kein Tier mit offener Tuberkulose bis zum 28. Jan. 1908 gegeben hat, und daß demnach, betreffs der Impftiere, die Immunität bis zum genannten Tage nicht auf die Probe gestellt worden ist.

Die nächste Untersuchung mit Tuberkulin wurde für einen Teil der Tiere, nämlich 627, 633, 637 und 643 sowie 12 Kontrolltiere, am 13. Okt. 1908 vorgenommen, wobei nur ein Kontrolltier — 274 — reagierte.

Die Ansteckungsmöglichkeiten für die Versuchstiere waren somit bis zum genannten Tage nicht nennenswert, und in der vereinzelter Reaktion unter den Kontrolltieren liegt selbstverständlich kein Beweis dafür, daß die geimpften Tiere die Tuberkulinprobe dank einem Impfschutze überstanden haben.

Die nächste mehr allgemeine Tuberkulinprobe für die Gruppen 441 bis 643 fand am 20. April 1909 statt, also bzw. 2 Jahre 1 Monat 14 Tage und 1 Jahr 10 Monate 17 Tage nach 5 IE. Von den 16 geimpften Tieren reagierten 4, sämtliche der älteren Gruppe (441—469) angehörend, und von den 13 an derselben Probe teilnehmenden Kontrolltieren reagierten 2, auch diese die ältesten in der Gruppe der Kontrolltiere. Zu beachten ist, daß die ältesten Versuchstiere nunmehr mit dem Bestand des Hauptgutes vereinigt worden waren.

Am 18. April 1910 neue Tuberkulinprobe. Von 7 Impftieren reagierte keines und von 8 Kontrolltieren eines.

Am 10. Mai 1911 eine letzte Tuberkulinprobe. Von 9 Impftieren reagierte keines, von 8 Kontrolltieren eines.

Die übrigen Gruppen, 807—0137 umfassend, bestätigen, was oben betreffs der Gruppe 441—643 gesagt worden ist und bieten darüber hinaus nichts von Interesse dar.

Die Impfversuche auf dem Gut III liefern ebensowenig wie die auf Gut I einen Beweis für den Nutzen der Bovovaccination. Leider waren nämlich die Ansteckungsverhältnisse derartige, daß sich betreffs der Immunität nichts feststellen ließ. Die Untersuchung ergibt übrigens, wie wichtig es ist, bei der Beurteilung der Bedeutung einer Impfmethode die Ansteckungsmöglichkeiten zu berücksichtigen und nicht lediglich durch eine einfache mathematische Berechnung zur Klarheit hierüber kommen zu wollen.

Wir erinnern schließlich daran, daß der Eigentümer der Tiere sich natürlich auch eine Auffassung von dem Werte der Impfungen bildet, wobei er sich nicht, wie wir das getan, einer Reduktionsregel bedient. Im vorliegenden Falle stellte sich die Sache für den Tiereigentümer so, daß 20 von 47 Impftieren und 9 von 19 Kontrolltieren, also bzw. 42,6 und 47,4 Proz., der Tuberkulinprobe erlagen. Man kann es ihm nicht verdenken, wenn er unter solchen Umständen die Impfungen als ziemlich wertlos ansah und zur Bekämpfung der Tuberkulose nach Bangs Methode überging, für deren Durchführung dank dem Vorhandensein mehrerer Vorwerke große Möglichkeiten bestanden.

Auf dem Versuchsgut XIII haben wir 31 Impf- und 19 Kontrolltiere in Betracht zu ziehen. Von den ersteren reagierten bei Tuberkulinprobe 5, d. h. 16,1 Proz., von den letzteren (384 wurde obduziert und als frei von Tuberkulose befunden) 8, d. h. 42,1 Proz.,

Bei Untersuchung der beiden ersten Impfgruppen, 491—683, mit Tuberkulin am 22. April 1908 reagierte keines von den 16 Tieren. Die spätere Impfdosis war vor bzw. 1 Jahr 1 Monat 5 Tagen und 10 Monaten 11 Tagen eingespritzt worden, weshalb die Tuberkulinprobe in die Immunitätsperiode fiel. An derselben Probe nahmen 9 Kontrolltiere teil; auch diese erwiesen sich als reaktionsfrei. Die Versuchstiere waren offenbar keiner Ansteckung ausgesetzt gewesen.

Anders gestaltete sich die Sache, als sie in den Hauptstall eingestellt wurden, was während der Zeit bis zur zweiten Tuberkulinprobe, die am 26. März 1909, also 11 Monate nach der ersten, vorgenommen wurde, stattfand. Von 13 übrig gebliebenen Impftieren reagierten 5 typisch und 3 zweifelhaft, und von den 10 Kontrolltieren reagierten 8. Die Immunität war verschwunden. Daß mehr Kontrolltiere als Impftiere reagiert haben (wir sehen von den zweifelhaften Reaktionen ab), bildet unseres Erachtens nicht mit Notwendigkeit einen Beweis dafür, daß die Impfung die Differenz zuwege gebracht hat. Das Verhältnis läßt sich sehr wohl so erklären, daß besonders die Kontrolltiere das Mißgeschick gehabt haben, in der Nähe ansteckungsgefährlicher Tiere plaziert zu werden. Wir sind demnach davon überzeugt, daß, wenn die übrigen 8 Impftiere einer Ansteckung ausgesetzt worden wären, auch sie reagiert haben würden (siehe die Gruppen 479—625 auf dem Versuchsgut I). Als weitere Stütze für die Richtigkeit unserer Betrachtungsweise in der fraglichen Hinsicht führen wir eine Untersuchung mit Tuberkulin auf dem Versuchsgut IX in unserer ersten Versuchsreihe an. Am 9. Febr. 1907 wurden dort mit Tuberkulin 16 Impf- und 15 Kontrolltiere untersucht. Das Resultat war dem oben erwähnten völlig entgegengesetzt, indem 9 Impftiere, aber nur 3 Kontrolltiere reagierten. Die Tiere waren während bzw. 19 Monaten 23 Tagen und 1 Jahr 28 Tagen geimpft ge-

wesen. Zwar ist es wahr, daß wir zu jener Zeit in Uebereinstimmung mit den geltenden Vorschriften von den Versuchen nicht Tiere ausschlossen, die auf 1 IE. reagiert hatten, der wesentliche Unterschied in der Reaktion zwischen Impf- und Kontrolltieren läßt sich aber doch nicht gut allein hieraus erklären. Zweifellos hatte auch ein Zufall zu dem Resultat beigetragen, der nämlich, daß die Impftiere mehr einer Ansteckung als die Kontrolltiere ausgesetzt gewesen waren.

Die erste Tuberkulinprobe für die beiden folgenden Impfgruppen 759—891, insgesamt 15 Tiere, fand am 26. März 1909, also gleichzeitig mit der zweiten Probe bei den vorigen Gruppen statt und ergab, daß kein Tier reagierte. Das Gleiche war der Fall bei den entsprechenden 8 Kontrolltieren. Ein neuntes Kontrolltier, 384, zeigte sich beim Schlachten am 18. Febr. desselben Jahres frei von Tuberkulose. Diese Versuchstiere waren noch nicht in den Hauptstall eingestellt worden und demnach keiner absichtlichen Ansteckung ausgesetzt gewesen.

Die Versuchsergebnisse auf diesem Gut sind den auf den Gütern I und III erhaltenen analog.

Auf dem Versuchsgut XIV haben wir 31 Impf- und 6 Kontrolltiere miteinander zu vergleichen. Von den ersteren reagierten 9, d. h. 29 Proz., von den letzteren 4, d. h. 66,7 Proz.

Die Gruppe 543—559, zusammen 7 Tiere, wurde zum erstenmal mit Tuberkulin am 14. April 1908 untersucht, wobei sich zeigte, daß kein Tier reagierte. Sie waren seit 11 Monaten 5 Tagen geimpft und hatten nebst den Kontrolltieren 200, 242 und 244 während der letzten 6½ Monate in dem Hauptstall gestanden, so jedoch, daß sie an dem einen Ende eines Futtertisches, die Hälfte auf jeder Seite desselben, aufgestellt worden waren. Später kam noch ein Kontrolltier, 246, hinzu. Auch die 4 Kontrolltiere erwiesen sich als reaktionsfrei. Ob ein Tier mit offener Tuberkulose während der genannten Zeit sich im Stalle befunden hat, läßt sich nicht entscheiden, das Resultat der Tuberkulinprobe spricht aber nicht mit Notwendigkeit dagegen, wenn die Plazierung der Tiere in Betracht gezogen wird.

Die nächste Tuberkulinprobe für die fragliche Gruppe fand am 4. Dez. 1909, d. h. 1 Jahr 7 Monate 20 Tage nach der ersten, statt. Damals waren die Tiere so alt, daß sie nicht mehr abgesondert standen, sondern hier und da dem Kuhstamm einverleibt waren. Die Folge hiervon ist die gewesen, daß 3 von den 7 Impftieren und sämtliche 4 Kontrolltiere einer Ansteckung ausgesetzt gewesen sind, da so viele reagierten.

Die 4 übrig bleibenden Impftiere und 2 in demselben Stall stehende Kontrolltiere, 354 und 356, wurden einer erneuten Probe mit Tuberkulin am 5. Mai 1911 unterzogen; von den 6 Versuchstieren reagierte nur eines, und zwar ein Impftier.

Die drei Impfgruppen 719—749, zusammen 15 Tiere, wurden zum erstenmal mit Tuberkulin am 4. Dezember 1909 untersucht. Sie waren geimpft seit bzw. 22 Monaten 21 Tagen, 20 Monaten 20 Tagen und 12 Monaten 8 Tagen. Keines von diesen Tieren reagierte typisch. Auch die zwei Kontrolltiere 354 und 356 reagierten nicht. Indessen können wir nicht umhin, auf den Umstand aufmerksam zu machen, daß wir hier als unanwendbar für die Beurteilung der Versuchsergebnisse gemäß der oben angegebenen Regel nicht weniger als 9 Impftiere haben ausschließen müssen. Es ist nicht wahrscheinlich, daß alle diese tuberkulös waren, bevor sie in dem infizierten Stalle eingestellt wurden, sehr wahrscheinlich

dagegen, daß wenigstens die 6 ältesten derselben nach dieser Maßnahme infiziert worden sind.

Die zweite Tuberkulinprobe an diesen Gruppen wurde am 5. Mai 1911 ausgeführt, wobei von 12 untersuchten Impftieren 5 reagierten, während die zwei Kontrolltiere, 354 und 356, andauernd reaktionsfrei waren.

Werden die beiden Tuberkulinproben vom 4. Dezember 1909 und vom 5. Mai 1911 vom Gesichtspunkt des Viehbesitzers aus betrachtet, so rechnet er natürlich mit sämtlichen an den Proben teilnehmenden Tieren, und er kann es dann unmöglich anders als entmutigend finden, wenn er von 42 geimpften Tieren durch Reaktion auf Tuberkulin 20 verliert. Daß er unter solchen Umständen erklärte, nicht weiter die Impfungen anwenden zu wollen, fanden wir natürlich.

Auf dem Versuchsgut XV haben wir 63 Impftiere, aber nur 9 Kontrolltiere in Betracht zu ziehen. Von den ersteren reagierten 12, d. h. 19 Proz., von den letzteren 5, d. h. 55,6 Proz.

Die Gruppen 647—715 wurden zum erstenmal mit Tuberkulin am 7. März 1908 untersucht, wobei sämtliche 22 Impftiere sich reaktionsfrei zeigten. Sie waren bzw. 9 Monate 5 Tage, 6 Monate 5 Tage und 3 Monate 2 Tage geimpft gewesen, so daß die Tuberkulinprobe bei allen drei Gruppen in die Immunitätsperiode fiel. Die 6 an derselben Tuberkulinprobe teilnehmenden Kontrolltiere 224—282 reagierten gleichfalls nicht. Vollkommen das gleiche Resultat hatte die zweite Tuberkulinprobe am 25. Februar 1909 (18 Impf- und 6 Kontrolltiere). Sämtliche Versuchstiere hatten bis dahin isoliert auf einem Vorwerk gestanden. Wie oben erwähnt, wurde dieses Vorwerk im März desselben Jahres verpachtet, weshalb es notwendig wurde, die Versuchstiere nach dem Hauptstall überzuführen. Hier wurden sie offenbar einer gründlichen Ansteckung ausgesetzt; nur wenige gingen frei aus. Denn als die von den Versuchstieren übriggebliebenen 11 Impf- und 5 Kontrolltiere am 26. April 1911 aufs neue mit Tuberkulin geprüft wurden, reagierten 8 von den ersteren und 4 von den letzteren. Die Impftiere waren damals seit bzw. 3 Jahren 10 Monaten 20 Tagen, 3 Jahren 7 Monaten 24 Tagen und 3 Jahren 4 Monaten 21 Tagen geimpft gewesen. Indessen ist es in hohem Grade wahrscheinlich, daß sie ziemlich bald nach ihrer Ankunft im Hauptstall tuberkulös geworden sind, und daß sie ziemlich sicher in demselben Verhältnis reagiert haben würden, wenn sie an der Tuberkulinprobe am 16. November 1909 teilgenommen hätten. Darauf deutet das Resultat der damals, unter anderen, mit Tuberkulin geprüften 8 Kontrolltiere 304—370, von denen nur eines, 340, nicht reagierte. Denn obwohl wir der Konsequenz wegen bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse die 7 reagierenden Kontrolltiere nicht zu der Kontrolltiergruppe auf diesem Versuchsgut gerechnet haben, sind wir doch überzeugt, daß sie ebensowenig wie die 6 Kontrolltiere 234—282 vor ihrer Einstellung in den Hauptstall im März 1909 infiziert gewesen sind.

Die Impfgruppe 839—845 bietet nichts Besonderes von Interesse dar. Die vier Tiere waren reaktionsfrei im Februar 1909, wurden gleichfalls im März desselben Jahres in den Hauptstall übergeführt, und bei der Tuberkulinprobe im April 1911 reagierte eines von den drei übriggebliebenen.

Dagegen sind die Gruppen 961—099, zusammen 13 Tiere, von größerem Interesse. Sie wurden das erste Mal mit Tuberkulin am 16. November 1909 untersucht und reagierten nicht. Die Impftiere

hatten 5. IE. vor bzw. 1 Jahr 5 Monaten 6 Tagen, 1 Jahr 2 Monaten 9 Tagen und 11 Monaten 13 Tagen erhalten, weshalb die Tuberkulinprobe wenigstens für die beiden letzteren Gruppen, 997—099, in die Immunitätsperiode fiel. Indessen halten wir uns für genötigt, behufs einer gerechten Beurteilung des Verhaltens dieser Impfgruppen gegenüber der Tuberkulinprobe, verglichen mit dem der Kontrolltiere, uns nicht streng an unsere Reduktionsregel zu halten: nämlich alle Tiere von der Beurteilung auszuschließen, die bei der ersten Tuberkulinprobe reagiert haben. Wir haben oben darauf hingewiesen, daß große Infektionsmöglichkeiten unseren Versuchstieren entgegentraten, als sie im März 1909 in den Hauptstall eingestellt wurden, was durch das Untersuchungsergebnis im November desselben Jahres und durch das gleiche Resultat im April 1911 bewiesen wird. Es ist da auffallend, daß von allen innerhalb der Gruppen 961—099 am 16. November 1909 mit Tuberkulin geprüften Tieren, 16 an Zahl, nur 3 reagierten, während von 8 Kontrolltieren 7 reagierten. Von einer für die Kontrolltiere besonders ungünstigen Platzierung im Stalle kann nicht gut die Rede sein, da sämtliche in Betracht kommenden Versuchstiere der Färsengruppe angehörten und demnach noch nicht dem Kuhstamm einverleibt worden waren. Es scheint uns klar, daß mehrere von den nicht reagierenden Impftieren einer Ansteckung ausgesetzt gewesen sind, der Infektion aber dank der Bovovaccinierung entgangen sind. Die übrigen Impfgruppen 0267—0409, sowie die dazugehörigen Kontrolltiere 392—440 liefern weitere Stützen für diese Auffassung.

In Anbetracht also der schweren Infektionsverhältnisse in diesem Stalle steht es außer allem Zweifel, daß der durch die Bovovaccination erteilte Impfschutz bei verschiedenen Tieren auf eine wirkliche Probe gestellt worden ist und dieselbe bestanden hat. Ob die Immunität sich noch längere Zeit nach der Tuberkulinprobe im April 1911 wirksam gezeigt haben würde, läßt sich nicht entscheiden; aber der Gruppe 647—715 sowie den Verhältnissen auf den übrigen Versuchsgütern nach zu urteilen, ist die Wahrscheinlichkeit dafür nicht groß.

Im Jahre 1911 wurde das Gut verkauft, und die Impfversuche fanden damit ein Ende.

### Die Versuchsgüter VII und XI.

Betreffs dieser Güter ist oben bereits mitgeteilt worden, daß die Versuchstiere bei keiner Gelegenheit absichtlich einer Ansteckung ausgesetzt worden sind, indem sie gegen Tuberkulose nach Bangs Methode geschützt wurden. Auf dem ersteren Gut geschah dies gemäß einer mit dem Eigentümer diesbezüglich getroffenen Vereinbarung, auf dem letzteren Gut entgegen unserem Wunsche.

Auf dem Versuchsgut VII sind alle Versuchstiere für die Beurteilung der Resultate heranzuziehen. Die Gruppe 343—399 war vor dem Beginn der Impfungen ein oder mehrere Male mit Tuberkulin geprüft worden und hatte dabei nicht reagiert. Wir sehen auch, daß kein einziges von den Tieren auf 1 IE. reagierte. Dasselbe war auch der Fall bei den Kontrolltieren 160—168, die im Juni 1905, zu welcher Zeit sonst ein Rückschlag innerhalb der geschützten Rinderabteilung eintraf, sowie im Mai 1906 reaktionsfrei waren.

Die erste Tuberkulinprobe nach der Impfung fand für die genannte Gruppe am 16. Mai 1907 statt. Die 29 Impftiere waren damals vor kaum mehr als einem Jahr geimpft worden. Zu beachten ist, daß sie

im allgemeinen in ziemlich vorgeschrittenem Alter geimpft worden waren; dem legten indessen die älteren Bestimmungen betreffs des Impfverfahrens kein Hindernis in den Weg. So befanden sich zur Zeit der Injektion von 1 IE. fünf Tiere im Alter zwischen  $1\frac{1}{2}$  und 2 Jahren, sechs Tiere zwischen 1 und  $1\frac{1}{2}$  Jahren, fünf Tiere zwischen  $\frac{1}{2}$  und 1 Jahr usw. Von den Impftieren reagierten 4 und von den fünf Kontrolltieren gleichfalls 4. Eine Infektionsquelle hatte offenbar auf die gegen Tuberkulose geschützte Abteilung eingewirkt. Wie viele von den Impftieren wirklich einer Ansteckung ausgesetzt gewesen sind, läßt sich nicht entscheiden, sicher ist aber, daß vier von ihnen es gewesen sind und dabei keinen Schutz von der Bovovaccination gehabt haben. Vielleicht stand dieser Mangel an Resistenz irgendwie in Zusammenhang damit, daß die Tiere so spät geimpft worden waren.

Bei der zweiten Tuberkulinprobe am 19. Februar 1908 reagierte ein weiteres Impftier. Außerdem war aus Versehen 373 in der reaktionsfreien Abteilung seit der vorhergehenden Probe zurückgeblieben, wurde daher aufs neue geprüft und reagierte wieder. An dieser Tuberkulinprobe nahmen auch zum erstenmal nach der Impfung die Gruppen 571 bis 707, zusammen 11 Tiere, teil; diese erwiesen sich als reaktionsfrei. Das Gleiche war der Fall bei den 7 Kontrolltieren 166, 204, 206, 208, 256, 258 und 260.

Am 7. Juni 1909 ergab eine erneute Tuberkulinprobe durchgehends negatives Resultat sowohl bei geimpften Tieren als bei Kontrolltieren (zwei Impftiere und ein Kontrolltier reagierten jedoch zweifelhaft). An dieser Probe nahmen zum erstenmal nach der Impfung die beiden Gruppen 827—959 teil, mit Ausnahme von 953, das am 11. Dezember 1908, also 6 Monate 23 Tage nach der Impfung, geschlachtet worden war und sich als frei von Tuberkulose erwiesen hatte.

Eine erneute Probe, die letzte von uns ausgeführte, wurde an sämtlichen übrig gebliebenen Versuchstieren am 30. Mai 1910 angestellt, wobei von 36 geimpften Tieren 1 und von 6 Kontrolltieren 2 reagierten.

Den Impfungen auf diesem Gut kann nicht ein Einfluß auf die Tuberkulosearbeit in der Weise zugeschrieben werden, daß bessere Resultate dadurch erhalten worden sind. Der Verlauf derselben unterscheidet sich in keiner Weise von dem vieler anderer Arbeiten derselben Art, wo Impfungen nicht zur Anwendung gekommen sind. Wir beabsichtigten auch nichts anderes mit unseren Impfungen hier, als wenn möglich festzustellen, ob das Bovovaccin sich darauf beschränkte, einen vorübergehenden Infektionszustand zu erteilen, oder ob es eine Herdbildung von bleibender Natur veranlaßte. Wir selber erachteten es für nicht wahrscheinlich, daß die anthropogenen Bacillen, aus denen das Bovovaccin besteht, eine solche bedenkliche Wirkung haben könnte, wir hielten es aber für notwendig, gestützt auf eigene Erfahrung, in dieser Hinsicht die Viehbesitzer beruhigen zu können, falls die Versuchsergebnisse im übrigen und das Impfverfahren überhaupt zu Massenimpfungen ermutigen sollten.

Zwar können wir sowohl in dieser wie in der früheren Versuchsreihe auf Obduktionen bovovaccinierter Rinder verweisen, die gezeigt haben, daß die Tiere von Tuberkulose frei gewesen sind, wir stellten uns aber vor, daß wir eine klarere und mehr unwiderlegliche Auffassung betreffs der fraglichen Sache erhalten würden, wenn wir in einem Bestande impften, in welchem strenge Maßregeln nach Bang zur Bekämpfung der Tuberkulose durchgeführt wurden.

Von unseren Versuchen auf dem Versuchsgut VII her liegen drei Obduktionsresultate vor. No. 343 wurde am 24. Juni 1907 geschlachtet, nachdem es seit 13 Monaten und 21 Tagen geimpft gewesen war, No. 361 wurde am 25. November desselben Jahres, also 18 Monate 22 Tage nach 5 IE. und No. 953 am 11. Dezember 1908, d. h. 6 Monate 22 Tage nach 5 IE., geschlachtet. Tuberkulose konnte in keinem der Fälle nachgewiesen werden. Die Obduktionen bestätigten somit unsere früheren Erfahrungen, weshalb es als mit genügender Sicherheit festgestellt angesehen werden muß, daß das Bovovaccin keine bleibende Herdbildung bei dem damit behandelten Rindvieh hervorruft.

Auch auf dem Versuchsgut XI können wir sämtliche Versuchstiere berücksichtigen.

Die beiden ersten Gruppen 411—605, insgesamt 18 Impftiere, wurden zum erstenmal mit Tuberkulin am 3. April 1908, also bzw. 13 Monate 8 Tage und 10 Monate 10 Tage nach 5 IE. untersucht. Sämtliche Tiere waren reaktionsfrei. Vier an derselben Probe teilnehmende Kontrolltiere reagierten gleichfalls nicht.

Die nächste Probe fand am 9. Dezember desselben Jahres statt und fiel demnach außerhalb der Immunitätsperiode. Von 14 übrig gebliebenen Impftieren reagierten 5, und 2 waren unsicher. Von 6 an derselben Probe teilnehmenden Kontrolltieren, darunter die 4 obenerwähnten, reagierte eines, das später hinzugekommen war. Später reagierte noch ein weiteres Impftier, 597, während unter den entsprechenden Kontrolltieren keine weitere Reaktion vorkommt.

Die Impfgruppe 741—757 wurde zum erstenmal mit Tuberkulin am 9. Dezember 1908, d. h. 11 Monate nach 5 IE., geprüft. Von den 7 Tieren reagierten 3. Die nicht reagierenden nebst zwei anderen zur Gruppe gehörenden, 743 und 753, erwiesen sich später bei wiederholten Proben als reaktionsfrei.

Zwischen den Tuberkulinproben am 3. April und am 9. Dezember 1908 hatte offenbar eine Infektionsquelle auf einen Teil der Versuchstiere mit dem Ergebnis eingewirkt, daß von sämtlichen an der letzteren Probe teilnehmenden Versuchstieren, insgesamt 30, davon 24 Impf- und 6 Kontrolltiere, 8 von den ersteren und 1 von den letzteren reagierten. Bemerkenswert ist, daß die fragliche Tuberkulinprobe auf einen Zeitpunkt fiel, wo wenigstens 3 von den reagierenden Impftieren hätten immun sein müssen, nämlich 747, 751 und 755. Die gleiche Bemerkung gilt betreffs der vier reagierenden Impftiere 053, 057, 063 und 089. Unstatthaft ist unseres Erachtens der Einwand, daß die Tuberkulinprobe bei einigen der reagierenden Impftiere zu schnell auf die zweite Impfdosis gefolgt wäre, so daß einige Reaktionen als von dem Bovovaccin herrührend angesehen werden könnten. Der Abstand zwischen den 5 IE. und der Tuberkulinprobe betrug in keinem Falle weniger als 7 Monate, nach welcher Zeit, wie wir oben gezeigt haben, man ohne die Gefahr einer Mißdeutung zur Tuberkulinprobe greifen kann. Dagegen ist es nicht ganz ausgeschlossen, daß spontane Infektion in dem einen oder anderen Falle während der Impfperiode geschehen sein könnte, jedenfalls aber bleibt der weniger günstige Ausfall der Impfungen auf diesem Versuchsgut bestehen. Denn wenn wir auch hier unsere Reduktionsregel angewendet und demnach von der Beurteilung alle bei der ersten Tuberkulinprobe reagierenden Versuchstiere ausgeschlossen hätten, so ergäbe sich doch durch Reaktion ein Verlust von 9 Impftieren, aber nur von 1 Kontrolltier.



Die übrigen Impfgruppen 849—0203 sowie die Kontrolltiere 308—390 verbessern das Resultat in keinem nennenswerten Grade.

Der Eigentümer der Tiere sah keinen Vorteil mit den Impfungen verknüpft, sondern ging zur Bekämpfung der Tuberkulose ausschließlich nach Bangs Methode über, wodurch er ein besseres Resultat erzielte. Wahrscheinlich hatten die Impfungen ihn verleitet, nicht in allem so rigorös bezüglich der Anwendung der Schutzmaßregeln zu sein, wie sie die genannte Methode vorschreibt. Genug, nach dem Aufhören der Impfungen im Februar 1909 wurde der Verlust durch Reaktion innerhalb des gegen Tuberkulose geschützten Teiles des Bestandes bedeutend geringer, und im April des gegenwärtigen Jahres verfügte er über 178 reaktionsfreie und 62 reagierende oder als solche angesehene Rinder.

Die Versuchsergebnisse, über die wir im Vorstehenden berichtet haben, dürften zu folgenden Sätzen berechtigen:

1) Wird ein tuberkelfreies Kalb bovovacciniert, so kann ihm dadurch ein Schutz gegen später eintreffende Angriffe von Tuberkelbacillen erteilt werden.

2) Die Wirkung des so erteilten Impfschutzes erstreckt sich nicht über das Färsenalter hinaus und kann bereits einige Monate nach dem Ende der Impfperiode aufhören.

Es erübrigt noch, zu erörtern, welchen Nutzen im Kampfe gegen die Rindertuberkulose ein solcher Impfschutz mit sich bringt.

Da die Impfperiode 6 Monate dauert, hat die Bovovaccination nicht die geringste Bedeutung während der Zeit, wo das Kalb mit Milch gefüttert wird. Auch hat sie im allgemeinen keine Bedeutung, wenn das Tier das Alter von 2 Jahren überschritten hat. Im großen und ganzen ist die Wirkung des Impfschutzes, wo die Bovovaccination einen solchen zur Folge gehabt hat, auf das Färsenalter des Rindviehs beschränkt. Es fragt sich nun, ob die Bedeutung hiervon für den Kampf gegen die Tuberkulose so groß ist, daß sie nicht ohne Unzuträglichkeiten außer acht gelassen werden darf. Hierbei dürfte folgendes in Betracht zu ziehen sein.

Ein jeder, der an dem Kampf gegen die Rindertuberkulose teilnimmt, kann nicht umhin, die Erfahrung zu machen, daß, wenn Ansteckung durch Milch glücklich vermieden worden ist, die nächste Schwierigkeit, die Tiere von Ansteckung frei zu halten, in der Regel erst dann begegnet, wenn sie das Färsenalter hinter sich gelassen haben und in den Kuhstamm eingetreten sind. Wir haben viele Hunderte Beispiele dafür, daß es auf keine nennenswerten Schwierigkeiten stößt, in einem Bestande, der von Tuberkulose befreit werden soll oder in dem nur das Jungvieh vor der Krankheit geschützt wird, die Färsengruppe von Ansteckung frei zu halten. Unsere zahlreichen Nachprüfungen mit Tuberkulin an gegen Tuberkulose geschützten Rindviehbeständen haben ergeben, daß die Färsengruppe mit durchschnittlich nur 4 Proz. reagiert hat, und dieser Prozentsatz ist zu einem sehr beträchtlichen Teile kein Ausdruck einer während des Färsenalters erworbenen Infektion, wohl aber einer Infektion während der Kalbperiode, verursacht durch mangelhafte Milchhygiene.

Unter solchen Verhältnissen erscheint die Bovovaccination als eine für den Kampf gegen die Rindertuberkulose ziemlich überflüssige Maßnahme, und die oben aufgestellte Frage dürfte folgendermaßen beantwortet werden können:

In dem Kampf gegen die Tuberkulose unter dem Rindvieh kann ein Impfschutz, der nur während des Färsenalters wirksam ist, ruhig entbehrt werden.

Wie aus unseren Versuchen hervorgeht, haben wir entsprechend älteren Anweisungen jedes Tier zweimal geimpft, das erste Mal mit 1 IE. und das zweite Mal mit 5 IE. Einer neueren Instruktion für die Ausführung der Bovovaccination<sup>1)</sup> zufolge wird die Impfung je einmal während des 1. und des 2. Lebensjahres des Tieres, beidemal mit 5 IE., vorgenommen. Beweise fehlen indessen dafür, daß diese Modifikation befriedigendere Resultate im Kampfe gegen die Rindertuberkulose geliefert hat.

Schließlich erinnern wir an die Behauptung, daß die Bovovaccination den Tieren eine Widerstandskraft auch in dem Sinne verleiht, daß sie nicht in demselben Grade den schweren Formen von Tuberkulose anheimfallen wie nicht bovovaccinierte Tiere. Die Beobachtungen in dieser Hinsicht sind jedoch bei weitem nicht befriedigend. Zur Klarstellung dieser Frage bedarf es eines sehr großen Versuchsmaterials, zahlreicher vergleichender Beobachtungen während vieler Jahre sowie zahlreicher Obduktionen. Und in jedem Falle erhebt sich die Frage, inwieweit die gleichzeitig getroffenen hygienischen Maßnahmen auf das erhaltene Resultat eingewirkt haben.

*Nachdruck verboten.*

## Die Bereitung von Serum gegen die Schweinepest.

[Aus dem Reichseruminstitut zu Rotterdam  
(Direktor Prof. Dr. J. Poels).]

Von **Herman Ubbens**, Tierarzt am Schlachthof in Amsterdam.

Solange man mit Salmon (1) den *Bacillus suipestifer* als die Ursache der Schweinepest betrachtete, waren die Methoden zu ihrer Bekämpfung gegen diesen gerichtet.

Salmon und Smith (2) veröffentlichten hierüber wichtige Untersuchungen. Durch subkutane oder intravenöse oder Futterinfektion von Schweinen mit ungeschwächten, abgeschwächten oder getöteten Kulturen des *Bacillus suipestifer* versuchten sie, die Tiere in leichtem Grade die Krankheit durchlaufen zu lassen, um ihnen die Fähigkeit zu verleihen, einer ernsten Infektion größeren Widerstand entgegenzusetzen zu können. Die mit ihren Impfungen erzielten Resultate befriedigten nicht, da die geimpften Tiere bei wirklicher Infektionsgefahr ebensogut krank wurden, wie die nicht geimpften, nur mit dem Unterschiede, daß der Verlauf der Krankheit bei den geimpften Tieren langsamer war, als bei den nicht geimpften.

Einige Jahre später machte de Schweinitz (3) ausgedehnte Versuche zur Immunisierung von *Caviae* gegen den Schweinepestbacillus. Es gelang ihm dies nicht nur, sondern er erhielt von diesen Tieren auch gleichzeitig ein wirksames Serum, welches gesunde *Caviae* gegen eine für Kontrolltiere tödliche Infektion mit virulenten Pestkulturen schützen konnte.

Um festzustellen, inwieweit das Serum immunisierter *Caviae* eine kurative Wirkung habe, impfte er *Caviae* mit 0,1 ccm Pestkultur, gezüchtet in eintägiger Bouillon. 2 Tage später wurden einige dieser Versuchstiere mit 1,5 ccm des Serums immunisierter Tiere geimpft, die anderen wurden als Kontrolltiere benutzt. Nach 2 Tagen wurde

1) Römer a. a. O. p. 327.

ihnen nochmals eine gleiche Dosis Serum injiziert mit dem Resultat, daß die Kontrolltiere innerhalb 10 Tagen, die behandelten Tiere 7—10 Tage später an Pest starben.

Später hat er diese Versuche wiederholt; es gelang ihm dann, das Leben eines der behandelten *Caviae* zu erhalten, während die übrigen mit den Kontrolltieren starben.

Während der Jahre 1893—1895 versuchte er, durch Hyperimmunisierung von Pferden, Rindern, Mauleseln und Affen ein wirksames Serum gegen die Schweinepest zu bereiten.

Er impfte die Tiere vorher subkutan, intravenös oder abdominal mit löslichen Fermenten oder Enzymen einer Pestbacillenkultur, gezüchtet in abgerahmter, sterilisierter Milch. Darauf wurden sie mit virulenten Bacillen geimpft. Allmählich wurde die Dosis des Impfstoffes erhöht. 6—8 Monate dauerte die Behandlung, bevor das Serum eine zu praktischer Verwendung genügende Stärke erhielt.

Bevor man damit zur Impfung von Schweinen übergang, wurde das Serum zunächst auf *Caviae* kontrolliert, indem man diesen Tieren mit dem Serum eine Menge Kultur injizierte, groß genug zur Tötung der Kontrolltiere in 7—10 Tagen.

Dieses Serum besitzt nach ihm nicht nur bei *Caviae*, sondern auch bei Schweinen sowohl eine kurative als auch eine schützende Wirkung. Im Staate Iowa in Amerika, wo Schweine damit geimpft wurden, starben von den geimpften Tieren 23 Proz. und von den nicht geimpften 80 Proz. an der Krankheit.

Auch hatte er beobachtet, daß bei Infizierung von Versuchstieren mit Pestbacillen und nachheriger Behandlung mit Pestserum und Brustseuchenserum diese schneller genesen, als mit Pestserum allein. Er wollte nun ein doppeltes Serum bereiten durch gleichzeitige Immunisierung der Versuchstiere mit Pest- und Brustseuchekulturen. Es ergab sich jedoch, daß das auf diese Weise erlangte Serum geringe kurative Eigenschaften für beide Krankheiten besaß.

Er konnte sogar Schweine immunisieren, indem er sie zuerst mit den Produkten der Bakterien impfte, sowohl mit dem Inhalt der Zellen selbst, als auch mit Exkretionsprodukten, die sich in der Kulturflüssigkeit befanden. 10 Tage nach dieser Impfung wurden die Schweine intravenös mit virulenten Kulturen des Schweinepestbacillus injiziert. Er sah, daß die behandelten Tiere am Leben blieben, während die Kontrolltiere starben.

Bereits im Jahre 1897 bereitete Preisz (4) Serum von einem Schwein, das heftig an Pest gelitten hatte und genesen war. Mit diesem Serum impfte er 21—30 Schweine, um sie dergestalt gegen eine natürliche Infektion zu schützen. Kurz darauf wurden sie der Krankheit ausgesetzt, mit dem Resultate, daß alle Kontrolltiere an der Krankheit starben, während die übrigen gesund blieben. Daraus konnte man also schließen, daß im Blut von Schweinen, die von Pest genesen sind, Abwehrmittel vorhanden sind, die mit dem Blutserum auf andere Tiere übertragbar sind, um sie dergestalt gegen eine Infektion zu schützen.

Schreiber (5) gelang es, ein Serum gegen Schweinepest, Brustseuche und Vogelcholera zu bereiten. Er nannte dieses Serum „Gepticin“, und es soll nach ihm, gleich dem Tuberkulin, auch als Diagnostikum bei Schweinepest und Brustseuche gebraucht werden können. An dieser Krankheit leidende Tiere reagierten dann innerhalb 24 Stunden durch Verlust von Freßlust und einer Temperatursteigerung von einem Grad. Da das Serum nur eine kurze passive Immunität besaß, trachtete er, die Immunität dadurch zu erhöhen, daß er dem Serum abgeschwächte Kulturen zufügte. Es geschah wiederholt, daß, wenn bereits infizierte Tiere mit diesem bakterienhaltenden Serum geimpft wurden, diese dadurch noch kränker wurden. Er betrachtete die Impfungen mit dem bakterienhaltenden Serum als für die Praxis gefährlich und stellte es nicht mehr zur Verfügung. Er gab nunmehr, je auf Verlangen, entweder Serum allein oder für die Simultanimpfung das Serum und die Kultur. Er empfahl stets, die Impfungen nicht gleichzeitig auszuführen. Die Nachimpfung mit Infektionskultur darf aber frühestens erst am 10. Tage erfolgen.

Wassermann und Ostertag (6) bereiteten ein polyvalentes Schweineseuchenserum durch Hyperimmunisierung von Rindern mit Pestbacillen verschiedenen Ursprungs. Sie konnten mit dem Serum dieser Tiere Mäuse gegen eine letale Dosis Schweinepestkultur schützen. Die von ihnen darauf bei Schweinen unternommenen Versuche sollen sehr befriedigend gewesen sein.

Im Jahre 1909 stellte Prof. Poels (7) Untersuchungen über die Schweinekrankheiten in den Niederlanden an. Er versuchte, Pestserum von Pferden zu erlangen durch subkutane oder intravenöse Impfung dieser Tiere mit Pestkulturen. Zuerst impfte er die Tiere mit bei 60° getöteten und später mit lebenden Kulturen. Als er sah, daß das Pestserum von Pferden nicht half, wollte er Schweine aktiv mit abgeschwächtem Virus impfen, um so Immunität zu erwecken. Er impfte die Tiere an den Ohren mit Pestkulturen enthaltender und 7 Stunden einer Temperatur von 49—49½° ausgesetzter

Watte. Die durch diese Impfung erzielte Immunität war jedoch relativ und nicht absolut.

Mehrere Forscher in Amerika, wie Dorset und Bolton (8), haben nachgewiesen, daß die Schweinepest nicht durch den *Bacillus suipestifer*, sondern durch ein filtrierbares Virus verursacht werde, überdies handele es sich meistens um eine gemischte Infektion, wobei die Krankheit primär durch ein filtrierbares Virus verursacht werde und der *Bacillus suipestifer* erst sekundär seine nachteilige Wirkung ausübe.

Kurz nachdem diese Untersuchungen aus Amerika bekannt geworden waren, stellte Prof. Poels (9) im Jahre 1903 Untersuchungen mit dem filtrierbaren Virus an. Er konnte die Krankheit mit diesem Virus stets von einem Schwein auf das andere übertragen. Dieses soll jedoch nach ihm nur mit Material von Schweinen gelingen, welche an akuter Pest gestorben waren, und nicht mit Material von Schweinen, die an chronischer Pest litten.

Im Jahre 1905 erschienen ausführliche Untersuchungen von Dorset, Bolton und Mc Bryde (10) bezüglich der Ursache der Schweinepest. Nur mühsam konnten sie durch subkutane Impfungen mit Pestkulturen die Krankheit bei den Schweinen erwecken, während die Tiere durch intravenöse Infektion oder durch Infektion per os schwer krank wurden oder starben. Die Krankheitssymptome und die pathologische Anatomie dieser Schweine glichen sehr jenen der Schweinepest, jedoch besaß das Blut nicht die gewöhnliche charakteristische Infektiosität und die Tiere waren gegen eine spontane Infektion nicht immun.

Sehr merkwürdig war es sicherlich, daß bei Impfung von Schweinen mit filtriertem, vorher auf Sterilität untersuchtem Virus der *Bacillus suipestifer* aus den Organen der gestorbenen Tiere gezüchtet werden konnte. Es entstand bei ihnen die Vermutung, daß dieser Bacillus auch wohl im Darmkanal gesunder Schweine vorkommen könne. Wird doch, wenn ein Tier an Schweinepest leidet, die Widerstandskraft desselben vermindert, es werden dadurch die Umstände für den Bacillus günstiger, um in die Blutbahn zu gelangen und so seine schädliche Wirkung auf den Organismus ausüben zu können. Auch sahen sie, daß ein Tier nach überstandener Krankheit nicht mehr für eine neue Infektion empfänglich war. Aus den vielen von ihnen angestellten Versuchen konnten sie die folgenden Schlußfolgerungen ziehen:

- 1) Die Krankheit wird durch ein filtrierbares Virus verursacht.
- 2) Die Krankheit ist infektiös.
- 3) Nach überstandener Krankheit werden die Tiere immun.

In Südafrika gelangte Theiler (11) zu dem Schluß, daß die dort vorkommende Schweinepest pathologisch-anatomisch mit jener in Europa übereinstimmte, aber daß sie nicht durch den *Bacillus suipestifer*, weil er diesen aus den Organen an Pest gestorbener Tiere nicht züchten konnte, sondern durch ein filtrierbares Virus verursacht würde. Es gelang ihm stets, die Krankheit mit dem Blut kranker Tiere zu übertragen. Nach ihm ist der *Bacillus suipestifer* zur Veranlassung pathologisch-anatomischer Veränderungen nicht notwendig.

Aus Anlaß einer Mitteilung von Hutyra (12), daß die Brustseuche vielleicht auch durch ein filtrierbares Virus verursacht würde, wurden durch Ostertag und Stadie (13) ausführliche Untersuchungen bezüglich der Filtrierbarkeit des Virus der Schweinepest und Brustseuche angestellt. Wenn sie mit dem Filtrat einer der beiden Krankheitsursachen impften, wurde es stets vorher auf Sterilität untersucht. Sie konnten die Tiere mit dem filtrierten Brustseuchenmaterial nicht krank machen, während sie nach Injektion mit filtriertem Pestmaterial stets das Auftreten von Schweinepest beobachteten. Nach ihnen soll die Schweinepest in Europa gleich jener in Amerika auch durch ein filtrierbares Virus verursacht werden. Der *Bacillus suipestifer* soll seinen nachteiligen Einfluß erst sekundär auf das pestkranke Tier ausüben können.

Während der Jahre 1903—1906 wurden vom „Bureau of Animal Industry“ durch Dorset, Mc Bryde und Niles (14) in Washington Untersuchungen angestellt bezüglich der Möglichkeit, Schweine für die Pest unempfindlich zu machen. Im „Bull. des Bureau of Animal Industry“ vom Jahre 1907 wurden die wichtigsten Resultate bezüglich der Schutzimpfung gegen die Pest mitgeteilt.

Es waren die folgenden:

1) Wenn immunen Schweinen eine genügende Menge Blut schweinepestkranker Schweine eingespritzt wird, dann erhält das Serum der immunen Schweine die Eigenschaft, nicht immune Tiere gegen eine Menge virulenten, gleichzeitig mit dem Serum angewandten Blutes zu schützen.

2) Tiere mit angeborener, natürlicher Immunität sind imstande, ein gleich wirksames Immunblut zu liefern, wie jene, welche sich die Immunität nach überstandener Krankheit erworben haben.

3) Hyperimmunität kann ebensogut erlangt werden durch Verabreichung einer großen Dosis virulenten Blutes, als auch durch wiederholte Injektionen kleiner Mengen.

4) Hyperimmunität läßt sich durch Injektion von Blut jedes beliebigen virulenten Grades erzielen.

5) Hyperimmunisierte Schweine sind während einiger Monate zur Verschaffung eines wirksamen Serums imstande.

6) 20 ccm Serum hyperimmunisierter Schweine können nicht-immune Tiere im Gewicht von 20—25 Pfund gegen virulentes, zugleich mit dem Serum angewandtes Blut schützen.

7) Schweine mit einer durch Simultanimpfung erlangten Immunität behalten diese wenigstens  $3\frac{1}{2}$  Monate und wahrscheinlich länger.

8) Bei der Simultanimpfung ist eine Erkrankung der geimpften Tiere nicht notwendig zur Erlangung einer wenigstens 3 Monate dauernden Immunität.

9) Bei Verabreichung einer genügenden Menge Serum werden die Schweine durch die Simultanimpfung nicht benachteiligt.

10) Schweine, nach der Simultanmethode geimpft, übertragen die Krankheit nicht, höchstens werden sie selbst krank.

11) Verwendet man nur Serum, dann ist dieses nicht länger als 3 Wochen gegen die Krankheit zu schützen imstande.

12) In der ersten Periode der Inkubation angewandt, wirkt eine Seruminfektion kurativ.

Niles (15) machte in Amerika bei 47 Herden Impfungen mit Serum oder mit Serum und Infektionsstoff. Das Serum erlangte er durch Hyperimmunisierung der Tiere, wie dies früher durch Dorset, Mc. Bride und Niles ausgearbeitet war. Für die Hyperimmunisierung befolgte man zwei Methoden:

1) Die langsame Methode. Sie bestand in Injektionen bei immunen Tieren von 3 aufeinander folgenden Mengen virulenten Blutes.

Bei der 1. Impfung 1 ccm per Pfund Körpergewicht,

„ „ 2. „  $2\frac{1}{2}$  „ „ „ „ nach 1 Woche,

„ „ 3. „ 3 „ „ „ „ 1

so daß das Schwein 10 Tage nach der letzten Impfung zur Lieferung von Blut geeignet war, dessen Serum für die Impfung gebraucht wurde.

2) Die schnelle Methode. Hierbei erhielt ein immunes Schwein 10 ccm virulenten Blutes per Pfund Körpergewicht.

Von dem nach Genesung der geimpften Tiere entnommenen Blut wurde das Serum durch Defibrinierung und nachheriger Zentrifugierung, oder durch Gerinnung hergestellt.

Dieses Serum war in Mengen von 30 ccm imstande, Schweine von 25—50 Pfund gegen eine gleichzeitige Impfung mit 2 ccm virulenten Blutes oder gegen eine natürliche Infektion zu schützen, während die Sterblichkeit in nicht behandelten Herden 50—90 Proz. betrug.

Es war bereits bekannt, daß nur mit Serum geimpfte Tiere nur kurze Zeit gegen die Krankheit geschützt wurden. Setzte man jedoch die Tiere direkt nach der Impfung der Krankheit aus, durch Einstellung in infizierte Ställe, dann erlangten sie eine längere Unempfindlichkeit, die wenigstens 6 Monate dauerte. Hieraus war bereits zu schließen, daß man in vollkommen gesunden Herden, wo keine Gefahr für schnelle Infektion bestand, die simultane Impfmethode zur Erlangung einer längeren Immunität anwenden mußte.

In infizierten Herden wurden die Tiere stets nur mit Serum geimpft, weil dann keine Gefahr bestand, einem bereits infizierten Schweine durch die Impfung zu viel Infektionsstoff beizubringen, was den Tod verursachen würde.

Die Resultate mit der Serumbehandlung in frisch infizierten Herden waren ausgezeichnet. Von den 337 Schweinen wurden 233 geimpft und 104 nicht. Von den geimpften Tieren starben 25, oder weniger als 11 Proz., während von den nicht geimpften 79 starben, oder 76 Proz. Zwar betrugen hierbei die Sterbefälle der geimpften Tiere noch 11 Proz., doch wurde dies dadurch erklärt, daß die noch nicht infizierten Tiere und die in der ersten Periode der Inkubation sich befindenden gesund blieben, während die ernstlich kranken trotz der Impfung starben.

Auch impfte man mit Serum bei einer bereits vor einigen Tagen infizierten Herde, so daß sich viele Schweine schon im letzten Stadium der Inkubationsperiode befanden. Die mit diesen Impfungen erzielten Resultate waren denn auch nicht so gut, als in frisch infizierten Herden, denn von den 386 mit Serum geimpften Tieren starben 63 oder 16,5 Proz., während von den 132 nicht geimpften 94 Schweine, oder 71 Proz. eingingen. Darum war es empfehlenswert, das Serum so schnell als möglich nach dem Auftreten der Krankheit anzuwenden, jedoch sollte man die Impfung nicht unterlassen, wenn die Herde sich schon im letzten Stadium der Inkubationsperiode befinden und bereits kranke Tiere vorhanden sind.

Auch machte Niles simultane Impfungen, u. a. bei einer an eine infizierte Gegend grenzenden Herde. Von den 201 Schweinen, welche mit 2,5—20 ccm Serum

und mit 2,5–5 ccm virulentem Blut geimpft wurden, starben 3, also 1 $\frac{1}{2}$  Proz.; von den 38 nicht geimpften starben 28 an der Krankheit oder 74 Proz. Bei einer Simultanimpfung in frisch infizierten Herden waren die Resultate nicht so gut. Von den 131 geimpften Schweinen starben 7 oder 5 Proz.; von den 18 nicht geimpften 14 oder 80 Proz.

Bei Bewertung seiner bei 47 Herden vorgenommenen Impfungen, wobei er entweder die Simultan- oder die Serumimpfung anwandte, kam er zu den folgenden Resultaten:

1) Serum von hyperimmunisierten Schweinen, in genügender Menge angewandt, konnte die nicht immunisierten Tiere gegen Schweinepest schützen. Für Ferkel waren 10–15 ccm, für Schweine 40–60 ccm Serum genügend.

2) Gesunde Herden konnten durch Anwendung der Simultanimpfung gegen Schweinepest immun gemacht werden.

3) In frisch infizierten Herden, in denen sich nur einzelne kranke Tiere befanden, konnten durch alleinige Anwendung der Serumimpfung Verluste fast gänzlich verhindert werden. Zwar konnte das Serum die sich im letzten Stadium der Inkubationsperiode befindenden Tiere nicht wiederherstellen, wohl aber die nicht infizierten und die meisten der noch im Anfang der Inkubation sich befindenden Tiere. In den beiden letzten Herden hatte die Simultanimpfung dieselben Resultate wie die Serumimpfung, jedoch mit dem Unterschiede, daß sich die Dauer und Unempfänglichkeit bei der ersten Impfung als länger erwies.

4) In ernstlich infizierten Herden, in denen die Infektion sich stark verbreitet hatte, konnte durch das Serum eine Anzahl der Tiere gerettet werden. Der Prozentsatz der Geretteten hing von der Anzahl der sich zur Zeit der Impfung in den Herden befindenden, nicht infizierten oder nur wenig infizierten Tiere ab.

5) Bei Infizierung einer Herde konnte man die Verbreitung der Krankheit durch Impfung der angrenzenden Herden verhindern.

6) Die Impfung der gesunden Schweine durch die Simultanmethode verursachte selten das Auftreten der Krankheit, und wird man in Zukunft diese Methode anwenden müssen, wenn es möglich ist, die Krankheit mit dem Serum zu bekämpfen.

Wenn Melvin (16) bei immunen Schweinen große Mengen Blut eines an Pest leidenden Schweines einspritzte, konnte er bereits eine Woche nach dieser Injektion ein wirksames Serum erlangen. Er wünschte auch die Anwendung zweier Impfmethoden, nämlich der Simultan- und der Serumimpfung in der Praxis. Im allgemeinen waren seine Resultate mit dem Serum günstig.

Im Jahre 1909 versuchte er, durch intravenöse Injektion des Virus Schweine zu hyperimmunisieren. Dies würde nach ihm die Vorteile bieten, daß derartige Tiere nach der Schlachtung sehr gut für den Konsum gebraucht werden könnten, und daß man mit der Hälfte des Infektionsstoffes eine gleich hohe Immunität erlangt wie mit den subkutanen Impfungen; dadurch würde dann die Serumbereitung bedeutend billiger werden.

Gleichzeitig wies er nach, daß Acidum carbolicum, selbst in Konzentrationen von 2,5 Proz., die Virulenz von Pestblut nicht vernichtete, während es wohl zur Tötung der gewöhnlichen, bisweilen in solchem Blute anwesenden Bakterien imstande war.

Im Jahre 1910 wurden diese Untersuchungen weiter fortgesetzt; man versuchte, das Virus abzuschwächen und eine ungefährliche Impfmethode zu erhalten, die den Tieren auch eine längere Unempfänglichkeit verleihen würde, als bei der Serumimpfung.

Es ergab sich, daß man Schweine sehr leicht gegen Pest, wahrscheinlich für ihre ganze Lebensdauer, durch eine Simultanimpfung mit karbolisiertem Pestvirus und Serum beschützen konnte. Versuche ergaben, daß Pestvirus durch 2 Proz. Acidum carbolicum selbst nach einem 14-tägigen Kontakt mit diesem Desinfektionsmittel nicht vernichtet werden konnte.

In Deutschland haben Uhlenhuth, Hübener, Xylander und Boths (17) auch ein wirksames Serum gegen die Schweinepest zu bereiten verstanden, durch wiederholte subkutane Impfung mit 25–100 ccm virulenten Blutes bei immunen Schweinen.

Das von diesen hyperimmunisierten Tieren erlangte Serum war imstande, in Mengen von 10–50 ccm gesunde Schweine gegen eine darauffolgende natürliche Infektion zu beschützen. Ihre Versuche, auch von Rindern, Pferden und Eseln durch subkutane oder intravenöse Impfung dieser Tiere mit einer großen Menge Virus ein wirksames Serum zu bereiten, mißlangen.

Das Serum hyperimmunisierter Schweine wurde u. a. bei 743 Schweinen erprobt, deren Mehrzahl ernstlich infiziert war. Hiervon wurden 330 mit 20–50 ccm Serum geimpft und 413 blieben ungeimpft. Es starben von den geimpften Schweinen 61 oder 18,4 Proz., und von den ungeimpften 212 oder 51,3 Proz.

Auch bereitete Ostertag durch Hyperimmunisierung immuner Schweine ein wirksames Serum, womit durch Stadie und Raiburger bei 24 Herden geimpft wurde, und mit welchem sie in den meisten Fällen gute Resultate erzielt haben.

Hutyra und Wetzl (18) hyperimmunisierten von der Pest bereits genesene Schweine. Sie impften die Tiere subkutan mit 500—600 ccm virulenten Blutes. Nach der Genesung der Tiere wurden sie nach 3 Wochen nochmals geimpft. Erst 3 Wochen nach der zweiten Impfung wurde Blut entnommen. Wenn kein Blut mehr entnommen werden konnte, wurden die Tiere geschlachtet und das Blut so steril wie möglich aufgefangen und darauf defibriert. Hiermit wurden die Schweine entweder an der Basis der Ohren oder an der Schenkelfläche subkutan geimpft. Man versuchte, dem Tiere möglichst oft Blut abzapfen. Jedesmal wurde mit einem scharfen Messer ein Stückchen des Schwanzes abgeschnitten. Durch die wiederholte Blutentnahme wurde der Immunitätswert des Blutes vermindert, so daß das Tier vor der Schlachtung nochmals mit Virus geimpft wurde, um die Immunität des Blutes wieder zu erhöhen.

Den Forschern zufolge wäre es empfehlenswert, beim Ausbruch der Krankheit alle Schweine der Herde so schnell wie möglich mit Immunserum oder Immunblut impfen zu lassen und die Herde auf derselben Stelle zu belassen, bis die Krankheit erloschen ist. Auch wäre es sehr wünschenswert, die sichtlich kranken Tiere schnell abzusondern und die schwer kranken zu töten.

Im Jahre 1909 wurden 10 661 Schweine mit Serum geimpft. In 42 Herden mit 3125 geimpften Tieren konnte man die Krankheit bekämpfen. In 22 Herden mit 3754 geimpften Tieren betrug der Verlust 1,4 Proz.; in 7 Herden mit 730 geimpften Tieren 8,2 Proz., und in 14 Herden mit 611 geimpften Schweinen 15,7 Proz. Von den nicht geimpften Tieren starben 23,7—57,6 Proz.

In 46 Herden, in denen neben 4189 geimpften Tieren 5008 Stück nicht geimpft wurden, starben 8,8 Proz. der geimpften und 30,9 Proz. der nicht geimpften Tiere. In 8 Herden erhielt man kein Resultat; hiervon starben von den geimpften 63,8 Proz. und von den nicht geimpften Tieren 57,9 Proz.

Nur selten sah man sichtlich kranke Tiere infolge der Serumimpfung genesen, und in 5 Fällen sah man in einer bereits geimpften Herde die Krankheit ein zweites Mal auftreten.

Maxer (19) wollte auch durch Abschwächung des Virus einen guten Impfstoff gegen die Schweinepest bereiten. Er brachte das Blut pestkranker Tiere 4 Tage mit 10-proz. Harnsäure oder 3 Tage mit 25 Proz. Galaktose in Berührung. Bei Verwendung des auf diese Weise erlangten Impfstoffes bei Versuchstieren ergab sich, daß die geimpften Schweine bei Kontakt mit dem Infektionsstoff nicht krank wurden, während sie gleichzeitig keine Infektionsgefahr für gesunde Tiere boten. Er empfahl, die Tiere 3—4mal mit einer oder mehreren wöchentlichen Zwischenpausen zu impfen.

Andere Forscher, wie Uhlenhuth und Xyländer, waren jedoch gegenteiliger Meinung; weder mit dem Impfstoff von Maxer, noch mit physisch oder chemisch abgetötetem oder abgeschwächtem Virus konnten sie Immunität erwecken.

King (20) versuchte, das Virus der Schweinepest durch intravenöse Impfung bei Pferden abzuschwächen. 6 Stunden nach der Impfung wurde den Tieren Blut entnommen. Mit den mit dem Blute oder Serum dieser Pferde bei Schweinen vorgenommenen Impfungen erhielt er wechselnde Resultate, jedoch brach kurz nach der Impfung in einzelnen Herden die Pest aus, so daß diese Methode auch wieder keine Empfehlung verdiente und verlassen wurde.

In Ungarn hatte Hutyra, Direktor der Königlichen Tierarzneischule in Budapest, angefangen, im großen Serum gegen Schweinepest zu bereiten und in der Praxis anzuwenden.

Adolf Eichhorn (21) gibt uns im Bureau of Animal Industry von der ungarischen Methode in der Hauptsache folgende Beschreibung:

100—200 Schweine von  $\pm$  200 Pfund kamen in einen infizierten Stall, in welchem sie gewöhnlich in 20 Tagen krank wurden. Früher dachte man, daß diese Infektion nicht genüge, und infizierte man die Tiere künstlich. Wenn die Krankheit sich gut entwickelt hatte, nämlich wenn die Haut hämorrhagische Flecke aufwies, wurden die Tiere geschlachtet. Das Blut dieser Tiere wurde zur Hyperimmunisierung von Pest genesener Schweine gebraucht. Weil für die Immunisierung die langsame Methode der schnellen Methode vorzuziehen war, wurden die Tiere nach Maßgabe ihrer höheren Immunisierung in verschiedenen Ställen untergebracht. Der Infektionsstoff wurde also von Tieren erlangt, bei denen die Krankheit akut aufgetreten war. Um das Blut infizierter Schweine aufzufangen, wurden die Tiere derartig auf eine eiserne Tafel gelegt, daß sie auf eine gebogene Fläche zu liegen kamen. Hierauf wurde das Tier durch Taue und Ringe befestigt. Man warf das Tier auf die rechte Seite. Die Pectoralseite, welche offen zu liegen kam, wurde durch Rasieren der Borsten gut gereinigt und mit 75-proz. Alkohol desinfiziert.

Ein speziell dafür konstruiertes Messer wurde gebraucht, um hier den Todesstich anzubringen. Das Blut strömte dann in ein sterilisiertes Faß. Das Messer besaß einen schneidenden und einen tubären Teil. Unter dem schneidenden Teil waren Öffnungen,



durch welche das Blut in den Tubus strömen konnte, von wo es in ein steriles Faß floß.

Das Blut wurde in einem, aus galvanisiertem Eisen hergestellten Faß aufgefangen. Auf das Faß paßte ein Deckel, an welchem ein Trichter befestigt werden konnte, wodurch das Blut in das Faß strömte. Auch war das Faß ausgerüstet mit einem Rührer und einem Handgriff zwecks Defibrinierung des Blutes. Am Boden des Fasses befand sich ein Zapfhahn, durch welchen das defibrierte Blut abströmen konnte. Die Immunisierung war vollständig, wenn die Tiere nacheinander drei subkutane Einspritzungen von 500 ccm Virus erhalten hatten. Diese Injektionen geschahen mit Zwischenpausen von 10–14 Tagen in die Leistenfalte.

8 Tage nach der letzten Impfung wurde den Tieren 500 ccm Blut entnommen, darauf nach 5 Tagen nochmals. Darauf wurden sie wiederum mit 500 ccm Virus zur Erhöhung der Immunität geimpft.

8 Tage nach der 4. Impfung wurde ihnen wiederum am Schwanz Blut entnommen und 5 Tage später wurde dies wiederholt. 4 Tage nach dem letzten Aderlaß wurde das Tier geschlachtet und das Blut steril aufgefangen. Auch machte Hutyrá Versuche mit intraperitonealen Einspritzungen des Virus zwecks Erforschung der Möglichkeit der Verringerung der Virusmenge und der Verkleinerung der Zwischenpausen zwischen 2 Impfungen.

Für die Hyperimmunisierung gebrauchte er viel Infektionsstoff, was die Serumbereitung ziemlich teuer machte, jedoch versuchte er, diesen Uebelstand durch Sammeln des Infektionsstoffes im Schlachthause zu verringern, wenn dort an Schweinepest leidende Schweine aus der Umgegend geschlachtet wurden.

Es wurden Notställe gebaut, um die Schweine bei der Impfung leichter festhalten zu können. Auch waren besondere Apparate hergestellt, um den Tieren Blut abzapfen zu können.

Nachdem das Blut aufgefangen war, wurde es defibriert, darauf zentrifugiert und endlich das Serum durch eine Luftpumpe in eine große Flasche abgesogen.

Nun wurde dem Serum ein Desinfektionsmittel zugefügt, worauf es in kleine Fläschchen abgezapft wurde, um an die Verbraucher versandt werden zu können.

Im allgemeinen waren die mit diesem Serum erzielten Resultate sehr gut. Nach der Impfung war die Sterblichkeit zwischen 8 und 9 Proz., ohne Impfung betrug sie 20–63 Proz. Die Wahl der Schweinerasse war für die Serumbereitung auch nicht gleichgültig; einzelne Rassen gaben viel schneller mehr Blut als andere, so waren z. B. englische Schweine für diesen Zweck weniger geeignet als Schweine aus Mangolicza.

Im Handbuch der Serumtherapie und Serumiagnostik von Wolff-Eisner und Max Klimmer (22) gibt Hutyrá selbst auch eine Beschreibung der ungarischen Methode.

In letzter Zeit hat auch Glässer (23) interessante Mitteilungen bezüglich der Schweinepest gemacht. Er gibt eine genaue Beschreibung vom Verlaufe der Krankheit und bespricht die pathologische Anatomie der verschiedenen Organe besonders. So treten nach der Infektion auf: Verminderte Freßlust, 41–42° Fieber, Diarrhöe, Abmagerung, in chronischen Fällen kann sogar eine Stomatitis auftreten und eine Schwellung und Krustenbildung an Zunge und Lippenrändern. An der Haut können auftreten: Quaddelerythem, pockenartiger Hautausschlag, multiple Blutungen und Schwärenbildungen. Ein einzelnes Mal kamen sogar abweichende Erscheinungen der Atmungsorgane vor, jedoch treten dann die Erscheinungen der Digestionsorgane mehr in den Hintergrund. Gehirnerscheinungen, wie Unruhe, Drängen, Muskelzerrungen, Manegebewegungen, Krämpfe usw. sind auch häufig vorhanden. Auch das Blut erfährt Veränderungen dadurch, daß die Erythrocyten Poikilotose und Chromatophilie zeigen, die neutrophilen und eosinophilen Leukocyten sind vermindert, während die Lymphocyten und die basophilen Leukocyten an Zahl abnehmen. Auch ist häufig die Anzahl der Blutgefäße sehr groß. Es ist noch nicht gelungen, das filtrierbare Virus sichtbar zu machen, ebensowenig hat man es zu züchten vermocht, auch gelang es nicht, das Virus durch die Komplementbindungsmethode in einem kranken Tier nachzuweisen, und sind die Ophthalmo- und Kutireaktion negativ ausgefallen.

Durch Ruther ist darauf hingewiesen, daß bei den Schweinepestläsionen im Darm häufig Spirillen vorkommen. Er glaubte, daß das filtrierbare Virus mit diesen Spirillen in einigem Verband stehen müsse.

Glässer ist jedoch nicht dieser Meinung, weil er bei seinen zahlreichen Untersuchungen des Blutes weder Spirillen im Blut, noch in anderen Organen nachweisen konnte.

Uhlenhuth wies in den Epithelzellen der Conjunctiva Chlamydozoen, Lutje mit Giemsa- und May-Grünwald-Färbungen im Blutkörperchen Granula nach.

Inwieweit diese Befunde für die Schweinepest von Bedeutung sind, muß noch festgestellt werden.



### Eigene Untersuchungen.

Im Frühjahr des Jahres 1912 wurde in den Niederlanden am Reichseruminstitut auf Initiative des Direktors Prof. Dr. J. Poels mit der Bereitung des Schweinepestserums begonnen. Dr. B. J. C. te Hennepe, Tierarzt und Bakteriologe an diesem Institut, erhielt den Auftrag, dieses Serum zu bereiten. Die Schweinezucht breitet sich in den Niederlanden in den letzten Jahren aus und ist für viele eine Haupteinnahmequelle geworden. Kräftig wird jedes Jahr gegen die Schweinekrankheiten gekämpft.

Während der ersten Monate wurde für die Serumbereitung nach der ungarischen Methode gearbeitet. Man kaufte zu diesem Zwecke Schweine, welche die Krankheit bereits überstanden hatten, also immun waren. Diese Methode stellt sich jedoch sehr teuer, da die Eigentümer nicht gern von der Krankheit genesene Schweine verkaufen, weil sie aus Erfahrung wissen, daß derartige Tiere für die Zukunft immun sind. Am 14. Februar wurde in Schoonhoven ein Schwein gekauft, das aus einer Herde von 50 Stück übrig geblieben war, wovon die übrigen an Pest gestorben waren. 4 andere, auch von der Krankheit genesene Schweine, wurden in Utrecht gekauft. Alle diese Schweine wurden an der Innenseite des Oberschenkels mit defibriniertem Blut subkutan geimpft.

#### No. 1.

17. Febr. 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
4. März 500 " "  
16. " das 1. Mal gezapft, "  
23. " 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
29. " gestorben an heftigem malignen  
Oedem an der Impfstelle

#### No. 2.

17. Febr. 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
4. März 500 " "  
16. " das 1. Mal gezapft, "  
23. " 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
2. April zweitemal gezapft,  
13. " geschlachtet.

#### No. 3.

17. Febr. 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
4. März 500 " "  
21. " das 1. Mal gezapft, "  
25. " 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
9. April gestorben an heftigem malignen  
Oedem an der Impfstelle.

#### No. 4.

17. Febr. 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
4. März 500 " "  
8. " gestorben an heftigem malignen  
Oedem an der Impfstelle.

#### No. 5.

17. Febr. 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
4. März 500 "  
8. " gestorben an heftigem malignen Oedem an der Impfstelle.

Am 5. März wurden wiederum in Utrecht aus einer pestbehafteten Herde übriggebliebene Schweine gekauft.

#### No. 1.

16. März 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
19. " gestorben an malignem Oedem  
an der Impfstelle.

#### No. 2.

16. März 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
19. " gestorben an malignem Oedem  
an der Impfstelle.

#### No. 3.

16. März 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
6. April 500 " "  
16. " das 1. Mal gezapft, "  
23. " 2. " "  
18. Juni " 3. " "  
21. " 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
2. Juli das 4. Mal gezapft,  
4. " 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
15. " geschlachtet.

#### No. 4.

16. März 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
9. Mai 500 " "  
23. " das 1. Mal gezapft, "  
18. Juni " 2. " "  
22. " 500 ccm Infektionsstoff subkutan,  
2. Juli geschlachtet.

Besonders im Anfange starben viele Schweine an malignem Oedem. Dies kam daher, weil das defibrinierte Blut pestkranker Tiere, mit welchem die immunen Schweine hyperimmunisiert wurden, mit malignen Oedembacillen verunreinigt war. Es ist sehr schwierig, den Infektionsstoff nach der ungarischen Methode steril zu erhalten. Diese Bacillen fanden im Blute einen guten Nährboden da der Sauerstoff durch das Hämoglobin gebunden wurde und dies das Wachstum der anaëroben Bacillen befördert. Ueberdies verursacht das Einspritzen großer Mengen Blut schwere Läsionen an der Impfstelle, welche die Infektion befördern. Allmählich gelang es, im Reichsseruminstitut viele der sich bei der Bereitung des Serums offenbaren Schwierigkeiten zu überwinden, wodurch die Serumproduktion sehr an Umfang zunahm.

### Die Bereitung des Infektionsstoffes.

Für die Bereitung des Infektionsstoffes wurden Ferkel im Gewicht von 14—20 kg gekauft. Der Preis dieser Ferkel beträgt im Durchschnitt 24 frs. per Stück, und ihr durchschnittliches Alter ist 10 Wochen. Die Ferkel werden einmal subkutan, dann wieder per os infiziert. Bei subkutaner Infektion werden sie mit 5 ccm Serum eines an akuter Pest leidenden Schweines eingespritzt. Bei Infektion per os werden sie mit zerkleinerten Organen und Blut kranker Schweine gefüttert. Stets wurde getrachtet, möglichst Infektionsstoff von Herden aus verschiedenen Gegenden zu erhalten, um auf diese Weise verschiedene Stämme von Pestvirus zu erlangen. Nach einigen Tagen treten Krankheitserscheinungen auf. Bisweilen überwiegen neben Darmerscheinungen Hauterscheinungen. Die Tiere bekommen Pestschwären. Bisweilen treten nur Herzerscheinungen auf, wie blaue Ohren, Schnauze und Bauch, später können sie bisweilen vollständig blau werden. Häufig sieht man nur Nervenerscheinungen, dann treten heftige Anfälle auf. Die Freßlust verschwindet nach dem 4. oder 5. Tage gänzlich, nur Durst haben sie noch. Beim Ausbrechen der Krankheitserscheinungen werden sie direkt geschlachtet. Vorher werden sie gut gereinigt. Zunächst kommen sie ganz in ein Kreolinbad, darauf werden sie mit Leitungswasser abgespült und gut abgetrocknet. Die Halsgegend, wo die Tiere gestochen werden, wird rasiert und mit 70-proz. Alkohol desinfiziert. Das für die Punktion gebrauchte Messer ist desinfiziert und wird durch eine erfahrene Person hantiert. Bei der Punktion dürfen nur die großen, bei der Apertura thoracis gelegenen Blutgefäße getroffen werden, denn bei Treffen des Herzens erfolgt schnell der Tod und wird wenig Blut erhalten. Wird die Trachea getroffen, dann wird viel Blut aus Nase und Mund fließen und verloren gehen. Das Blut wird durch einen sterilen Trichter, der gegen den Hals unter die gemachte Oeffnung gesetzt ist, in einer sterilen Flasche aufgefangen. Fließt kein Blut mehr aus der Wunde, dann werden die Gliedmaßen kräftig bewegt und der Brustkorb zusammengedrückt, um auch das letzte Blut zu erlangen. Von schwerkranken Ferkeln erhält man viel weniger Blut, als von leicht kranken, da das Blut schließlich infolge der Krankheit sehr dick wird und schlecht flüssig ist. Nun läßt man das Blut durch mehrstündiges Stehen bei Zimmertemperatur langsam abkühlen. Man muß versuchen, beim Auffangen des Blutes so wenig wie möglich Schaum in der Flasche zu erhalten, weil sonst der beim Gerinnen entstehende Blutkuchen an diesem Schaum hängen bleibt und man nicht so viel Serum herauspressen kann. Darauf wird es in den Eisschrank gesetzt und der Blutkuchen durch Drehung der Flasche ge-

löst, er sinkt dann zu Boden und das Serum sammelt sich darüber. Nach 48-stündigem Aufenthalt im Eisschrank wird es 24 Stunden gepreßt. Das Pressen geschieht in denselben Flaschen, in denen das Blut aufgefangen wurde. Es sind dies lange, gläserne Zylinder, die eine Länge von 50 cm und einen Durchmesser von 6 cm haben. In die Flaschen passen Stampfer, auf welchen sich eine horizontale Tragfläche befindet,

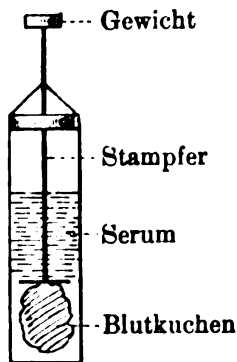


Fig. 1.

auf die Gewichte gestellt werden können. Da der Blutkuchen von Schweinen sehr fest ist, kann stark gepreßt werden. Für Flaschen mit obenstehendem Durchmesser ist ein Gewicht von 1000 Gramm wohl genügend. Nachdem das Serum durch eine Luftpumpe in eine größere Flasche abgesogen ist, kann es verschiedene Wochen im Eisschrank aufbewahrt werden, ohne daß der Infektionsstoff seine Virulenz verliert. Durch Versuche wurde bewiesen, daß das Serum wenigstens 3 Monate im Eisschranke virulent blieb. Hiermit werden die zu hyperimmunisierenden Schweine subkutan hinter den Ohren geimpft. Die Ferkel werden nach Maßgabe des Bedarfs an Infektionsstoff jedesmal in geringer Anzahl gekauft. Stets nimmt die Krankheit einen akuten Verlauf, und findet man

bei der Sektion eine hämorrhagische Entzündung von Magen und Därmen, besonders des Coecums. Dies alles ist mit Erscheinungen von Septikämie gepaart, wie geschwollene Milz, geschwollene, hämorrhagisch entzündete Lymphdrüsen; häufig sind die Glandulae submaxillares ernstlich angegriffen. Auch ist in solchen Fällen häufig eine diphtheritisch-krupöse Exsudation in Nase, Kehle und Schlund vorhanden, auch meistens eine serofibrinöse Pericarditis, Pleuritis und Peritonitis. Die Erscheinungen vom Magen und Darmkanal sind ernstlich. Die Mucosa von Magen und Därmen ist geschwollen und besitzt eine intensiv rote bis schwarze Farbe; bisweilen ist sie diffus, bisweilen mehr ausgebreitet rot mit einem gelblich-weißen, schmutzig grauen, oder braunen Belag bedeckt. Meistens besteht eine ernstliche Diarrhøe, jedoch trat in einigen Fällen die Diarrhøe sehr spät auf, oder sie war bereits früh wieder verschwunden.

Von einer Anzahl Ferkel wurde vor der Schlachtung die Temperatur aufgenommen und das Gewicht festgestellt. Auch wurde die von jedem Ferkel erhaltene Menge Blut und Serum gemessen. Es wurden Kulturen auf Schrägagar, Strich- und Stichgelatine, in Traubenzucker und Milchzuckerpepton angelegt, um die Anwesenheit von Pestbacillen in Leber, Milz und Nieren festzustellen.

Tabelle I.

Ferkel	Temperatur	Gewicht kg	Blut ccm	Serum ccm	Verhältnis zwischen Blut und Serum	Pestbacillen in		
						Leber	Milz	Nieren
1	42,2	15,6	790	200	100 : 25	+	+	+
2	42,1	14,8	705	285	100 : 40	+	+	+
3	41,5	16,5	725	360	100 : 50	+	+	+
4	42	12,2	510	250	100 : 49	+	+	+
5	41,9	15	799	300	100 : 38	+	+	+
6	42	13,7	550	275	100 : 50	+	+	+

Obwohl sich in den Organen der geschlachteten Ferkel meistens Pestbacillen befinden, können diese im Serum dieser Ferkel nicht immer nachgewiesen werden.

Am 22. Oktober wurde wiederum eine Anzahl Ferkel gekauft, sie wurden gleich den anderen Herden in infizierten Ställen untergebracht und subkutan oder per os infiziert. Von einigen wurde täglich die Temperatur aufgenommen.

Tabelle II.

Ferkel	22. Okt.	23. Okt.	24. Okt.	25. Okt.	26. Okt.	27. Okt.	28. Okt.	29. Okt.	30. Okt.	31. Okt.	1. Nov.	
1	39,2	39,8	40,4	40,5	41,5	41,8	41,6	41,9	41,6	42	41,6	geschl.
2	39,4	39,8	40,3	41	41,3	41,8	41,8	41,5				"
3	39,2	39,6	39,6	39,8	40,6	41,5	41,5	40,8	41,9			"
4	39,1	40	39,9	41,6	41,7	41,9	41,9	42				gestorben
5	39,2	39,6	39,7	41,5	41,9	42	40,7	40,8	42			geschl.

Am 25. Oktober, also am 4. Tage nach der Infektion, bekamen die Ferkel eine akute fieberartige Krankheit mit einer geringen Conjunctivitis, gepaart mit ekzematösem, pustulösem Hautausschlag und nachfolgender Diarrhöe. Meistens tritt als eine der ersten Erscheinungen auf, daß der Schwanz schlaff herabhängt. Die Freßlust verschwindet schnell, sie kommen wohl noch zum Futtertrog, kriechen jedoch bald wieder in eine Ecke des Stalles oder unter das Stroh. Werden sie noch kränker, dann kommen sie beim Füttern nicht mehr zum Trog; sie bleiben still auf ihrem Platz liegen. Jagt man sie auf, dann können sie häufig mit einem krummen Rücken und gebogenem Kopf stehen bleiben, oder sie gehen mit wackeligem Gang etwas weiter. Schnell bekommen die Ferkel Diarrhöe, häufig sind die Faeces graugelb gefärbt, bisweilen blutig und sehr stinkend. Die Ferkel No. 1 und 3 hatten am 9. Tage nach der Infektion keine Diarrhöe. Die Krankheit hat bei einem Tiere einen schnelleren Verlauf als beim anderen. No. 4 war bereits am 8. Tage nach der Krankheit gestorben.

Tabelle III.

Ferkel	Gewicht kg	Menge		Verhältnis zwischen Blut und Serum	Pestbacillen Kulturen auf Agar nach Impfung aus			
		Blut ccm	Serum ccm		Leber	Milz	Nieren	Serum
1	16,25	510	170	100:33	+	+	+	—
2	17	550	272	100:50	+	+	+	—
3	19,50	580	180	100:31	—	—	—	—
4	16	590	200	100:34	+	+	+	+
5	15	490	150	100:31	+	+	+	—
6	18	600	290	100:48	+	+	+	—
7	12	490	100	100:20	+	+	—	—
8	15½	645	210	100:33	+	+	+	—
9	14	430	100	100:23	+	+	+	—
10	15½	509	295	100:59	+	+	+	—

In Tabelle III werden außer dem Gewicht jedes Ferkels vor der Schlachtung die Menge von Blut und Serum, das Verhältnis zwischen Blut und Serum und auch das Resultat der Impfungen aus Leber, Milz, Nieren und Serum mitgeteilt. Es geht daraus hervor, daß das durchschnittliche Gewicht eines jeden Ferkels vor der Schlachtung 15½ kg beträgt, die durchschnittliche Menge Blut 591 ccm, Serum 227 ccm,

durchschnittliches Verhältnis zwischen Blut und Serum 100:38. Bei den kranken Tieren kann man regelmäßig den *Bacillus intestinalis suis* seu *suipestifer* aus den Organen auf Agar züchten; gewöhnlich erhält man mehr Kolonien, wenn aus der Leber und Milz, als wenn aus der Niere geimpft wird. Ein einziges Mal erweist sich die Niere als bacillenfremd und bleibt das Agarröhrchen steril. Obwohl der Pestbacillus regelmäßig aus den Organen gezüchtet werden kann, erweist sich das nach Pressung aus dem Blut dieser Tiere erlangte Serum häufig als steril.

Am 5. November wurde wiederum eine Herde Ferkel infiziert; im Ganzen wurde hiervon bei 22 die Sektion ausgeführt und aus den Organen und dem Serum auf Agar geimpft.

Tabelle IV.  
Resultate der Impfungen:

Anzahl Ferkel		Leber	Milz	Nieren	Serum
22	Pestbacillen	19	19	16	0
	keine Pestbacillen	3	3	6	22

Bei der Sektion zeigte eins der Ferkel Rotlauferscheinungen. Nach einigen Tagen entwickelten sich im Gelatinestich neben einigen Pestkolonien typische Rotlaufkulturen.

Mit dem Serum dieser Ferkel wurden Tauben geimpft, um zu erforschen, ob noch mehr mit Rotlauf behaftete Ferkel darunter gewesen waren. Die Tauben sind für Rotlaufbacillen sehr empfindlich; gewöhnlich sterben sie innerhalb dreimal 24 Stunden an einer Infektion. Für den *Bacillus suipestifer* sind sie unempfindlich. Am 14. November wurden die 22 Tauben mit 1 ccm Serum subkutan geimpft. Am 18. November starb die mit dem Serum des mit Rotlauf behafteten Ferkels geimpfte Taube. Bei der Anfertigung eines Grampräparates aus den Nieren wurde der Rotlaufbacillus nachgewiesen. Die übrigen Tauben blieben bei guter Gesundheit.

### Das Hyperimmunisieren der Schweine.

Am 25. Juli wurde eine Herde Schweine gekauft, die für die Serumbereitung gebraucht werden sollten. Hierfür wurden nunmehr gewöhnliche, normale Schweine gebraucht, die viel leichter und billiger erhältlich sind. Vor der Einstellung wurden sie gewogen und mit Ohrnummern gekennzeichnet. Da es schon lange her war, daß diese Schweine gegen Rotlauf geimpft waren, wurden sie mit 1 ccm Kultur und 10 ccm Serum nochmals geimpft. Am 1. Aug. wurden sie zum ersten Male mit Pestvirus geimpft. Ferner wurden die folgenden Injektionen verrichtet:

1. Aug.	1 ccm Seruminfektionsstoff, 10 ccm Serum subkutan.
14. "	10 "
28. "	100 "
12. Sept.	200 "
26. "	200 "
10. Okt.	200 "
20. "	1000 " Blut aus dem Schwanz gezapft.
24. "	200 " Seruminfektionsstoff subkutan.
4. Nov.	1000 " Blut aus dem Schwanz gezapft.
8. "	1000 " Blut aus dem Schwanz gezapft.

alle 4 Tage bis das Tier keinen Schwanz mehr schlachtet. Ferner gab man als größte Dosis 10 ccm defibriertes Blut subkutan. Am 1. Aug. wurde es zum ersten Male; es entstehen

dadurch große Läsionen im subkutanen Gewebe an einer Stelle, wo von Natur wenig Zirkulation besteht. Auch ist das defibrinierte Blut nur mühsam steril zu erhalten, hingegen das Serum leicht durch Pressung. Es ist das Maximum des Serums daher reduziert auf 200 ccm.

Nach der ersten Impfung haben die Tiere im allgemeinen am folgenden Tage weniger Freßlust, im übrigen wenige Erscheinungen; später bei der 2., 3. und 4. Einspritzung merkt man nichts mehr an den Schweinen. Als Impfstelle wird nicht mehr die innere Schenkelfläche genommen, sondern dies geschieht jetzt hinter den Ohren, was auch sehr bequem ausführbar ist und niemals zu Störungen Veranlassung gibt. 80 Tage nach der Impfung können die Tiere zum ersten Male abgezapft werden. Das Abzapfen geschieht aus dem Schwanz. Vorher wird der Schwanz und das Hinterviertel mit der Tondeuse geschoren, mit heißem Wasser abgespült und mit 70-proz. Alkohol desinfiziert. Durch das Waschen und Desinfizieren entsteht im Schwanz eine Hyperämie, wodurch die Blutung aus den Arterien befördert wird. Zuerst wurde mit einer Schere ein Stück von 1 cm vom Schwanz abgeschnitten, doch wurde dadurch die Arterie dicht gekniffen. Darum ist es besser, den Schwanz mit einem scharfen Meißel auf einem gereinigten Holzblock abzustechen. Diese Methode gefällt mir sehr gut. Läuft das Blut nicht gut, dann wird der Schwanz massiert und gekniffen. Auch wird häufig infolge einiger Schläge mit einer Latte auf den Schwanz das Blut plötzlich viel besser ausfließen. Falls die Blutung geringer wird, entfernt man von Zeit zu Zeit das sich an der Oberfläche bildende geronnene Blut mit steriler, feuchter Watte. Das Blut wird in einem sterilen, gläsernen Trichter aufgefangen, in welchen der Schwanz genau hineinpaßt. Das Trichterchen muß mit einer weiten Röhre versehen sein, denn bei enger Röhre wird diese schnell durch geronnenes Blut verstopft sein. Der Trichter paßt wieder in eine sterile, gläserne Röhre, die einen Durchmesser von  $3\frac{1}{2}$  cm und eine Länge von 23 cm hat. Das Zapfen der Schweine geschieht auf einem rechteckigen Tisch, in dessen Oberfläche sich 4 große Löcher befinden, wodurch die Beine des auf dem Tisch liegenden Schweines gesteckt werden. Am Tisch sind 3 starke Lederriemen befestigt, mit welchen das Tier unbeweglich auf dem Tisch festgebunden werden kann. Einer derselben kommt

hinter die Ohren, einer über den Rücken und einer über die Lenden.

Um die Schnauze wird eine Art Maulkorb befestigt, um Schreien und Beißen zu verhindern. Wenn möglich, wird man jedesmal 7 Röhren Blut abzapfen, gleich  $\pm 1000$  ccm. Es ist besser, das Blut in 7 kleinen Röhren aufzufangen, als in einer großen, weil nicht so schnell Verunreinigung auftritt, überdies sind sie leichter zu handhaben. Die Schweine werden alle 4 Tage gezapft, was die Tiere sehr gut vertragen, obwohl ihre totale Blutmenge doch nur  $\pm 3$  Liter beträgt.

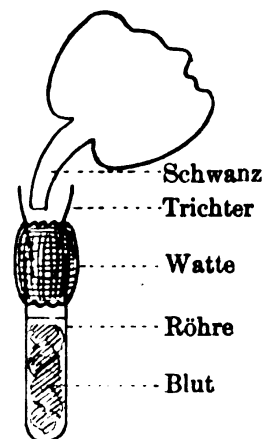
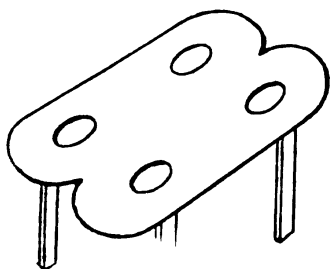


Fig. 2.





Bisweilen will der Schwanz nicht gut bluten, und kann man nur 100 g Blut erlangen, es ist dann nicht wünschenswert, einige Male 1 ccm aufs neue abzuhacken, sondern lieber mit dem Zapfen einige Tage zu warten, um dann wiederum zu probieren. Es ist von Bedeutung, jedesmal so viel Blut als möglich abzapfen. Die Schweineart ist für die Häufigkeit des Zapfens von Bedeutung. Am besten sind magere Schweine mit großen Ohren und langen Schwänzen geeignet. In der letzten Zeit wurden hauptsächlich alte Sauen für diesen Zweck gebraucht. So wurde ein Schwein von nur 62 kg Gewicht 13mal aus dem Schwanz gezapft, und lieferte dasselbe dadurch 6500 ccm Serum und weiter bei der Schlachtung noch 1500 ccm, also total 8000 ccm Serum. Außer mit Ohrnummern wurden die Tiere auch noch mit Rückennummern gekennzeichnet. Dies ist leicht ausführbar und man kann so die Schweine aus großer Entfernung voneinander unterscheiden. Wenn sie auf dem Tische liegen, wird die Nummer in die Borsten geschnitten und mit Karbolfuchsin gefärbt. Dieses geht wohl nach einigen Tagen ab, wird jedoch nach 4 Tagen jedesmal beim Zapfen erneuert. Nach dem Zapfen wird das Blut durch Abbinden des Schwanzes mit einer Kordel gestillt und die Wundstelle mit Tinctura jodii betupft. Das Blut läßt man wiederum langsam abkühlen und darauf wird es gepreßt. Das Serum wird vermittelst einer Luftpumpe in den Serumhalter abgesogen (eine große gläserne Flasche). Hier wird dem Serum ein Desinfektionsmittel zugefügt, und zwar auf 1000 g Serum 10 g einer Chinosollösung 1:10. Jetzt läßt man es sich setzen. Auf dem Boden bildet sich eine kleine Lage Bodensatz, die obere, sehr helle Flüssigkeit zapft man nach einigen

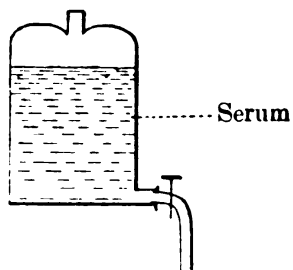


Fig. 4.

Wochen ab. Bevor es in kleinere Fläschchen von 50–100 ccm Inhalt abgezapft wird, wird es noch auf Sterilität untersucht. Unten am Boden des Serumhalters befindet sich ein Zapfhahn, aus welchem das Serum in die Flaschen abfließt. Vorläufig werden die gefüllten Fläschchen mit einem sterilen Wattepfropfen geschlossen, nach einiger Zeit wird dieser durch einen sterilen Kork ersetzt. Vor der Verschließung des Fläschchens mit dem Kork wird dieser in geschmolzenes Paraffin getaucht, um die Abschließung der Außenluft so vollkommen wie möglich zu machen. Der Kork

wird darauf mit einer Lage geschmolzenen Lacks bedeckt. Nun ist das Fläschchen versandfähig und wird bis auf weiteres an einer kühlen, dunklen Stelle aufbewahrt.

Die Pressung des Blutkuchens bietet viele Vorteile gegenüber dem Zentrifugieren und Defibrinieren des Blutes:

- 1) Die Aussicht auf Verunreinigung des Blutes ist nicht so groß.
- 2) Das Blut kann in einer engen Röhre reiner aufgefangen werden, als in einem großen Trichter eines Defibrinators.
- 3) Das Serum wird mit wenig Mühe erlangt; man braucht es nur stehen zu lassen und zu pressen.
- 4) Es ist weniger Personal für die Serumbereitung nötig.
- 5) Das Serum wird viel heller.
- 6) Die Serummenge ist größer.
- 7) Zentrifugieren kostet sehr viel Geld infolge Anschaffung der Maschinen, der Triebkraft der Motoren und des Unterhaltes der Zentrifuge.

Es ist sehr wünschenswert, den Schweinen viele Bewegung in frischer Luft zu verschaffen. Dadurch wird die Blutbildung gefördert und der Fettansatz verhindert. Weidegang ist daher sehr ratsam und wird in der milderen Jahreszeit fortwährend angewandt.

Die Schlachtung geschieht auf dieselbe Weise wie bei den Ferkeln. Die Schweine werden an den Hinterbeinen hochgezogen, darauf vollständig gewaschen und wieder abgetrocknet, um das Stauben bei der Operation zu verhindern. Sodann wird die vordere Halsfläche geschoren und mit 70-proz. Alkohol gut desinfiziert. Das Blut wird in einer Flasche mit einem Durchmesser von 6 cm und einer Länge von 50 cm, einem Inhalt von ca. 1 Liter, aufgefangen. Untenstehende Tabelle gibt eine Uebersicht des Schlachtgewichts der Schweine, der Sektion, der Menge des Blutes und des Serums und der Resultate der Impfungen aus Leber, Milz und Niere auf Agar:

Tabelle V.

Schwein	Schlachtgewicht in Kilogramm	Sektion Tuberkulose positiv oder negativ	Menge des Blutserums in Kubikzentimeter		Kulturen auf Agar geimpft aus		
			aus dem Schwanz	bei der Schlachtung	Leber	Milz	Nieren
1	50	+	950	550	—	—	—
2	70	—	2000	800	—	—	—
3	85	+	2590	700	—	—	—
4	100	—	3110	1090	—	—	—
5	120	—	3300	1100	—	—	—
6	55	+	1500	550	—	—	—
7	86	+	2620	880	—	—	—
8	84	+	2340	780	—	—	—
9	90	+	2290	810	—	—	—
10	97	+	2630	830	—	—	—
11	96	+	2440	830	—	—	—
12	68	+	1800	700	—	—	—

Von den Schweinen wurden solche ungleiche Mengen Blut erhalten, weil häufig viel geronnenes Blut in der Brusthöhle vorkommt. Viele Schweine sind tuberkulös. Eine Anzahl wurde interkutan mit 100 mg unverdünnten Tuberkulins am oberen, hinteren Ohrtrand geimpft. Die tuberkulösen Schweine reagierten darauf durch eine Schwellung an der Impfstelle.

In der folgenden Tabelle wird eine Uebersicht gegeben von der Anzahl der Zapfungen vor der Schlachtung, dem Schlachtgewicht in Kilogramm, den Resultaten der Tuberkulinreaktion, dem Vorkommen von Tuberkulose bei der Sektion und der totalen Ausbeute an Serum (s. Tabelle VI).

Durchschnittlich werden die Schweine 7mal gezapft. Beim Einkauf betrug das Gewicht 2288 kg. Total haben die Schweine 93 745 ccm Serum geliefert, also 3344 ccm per Schwein (s. Tabelle VII u. VIII).

Mit Rücksicht auf andere Bereitungsmethoden war es sehr interessant, das Verhältnis zwischen der Menge Blut und Serum einer Anzahl Schweine zu messen (s. Tabelle IX).

Hieraus ergibt sich, daß sich das Verhältnis zwischen der Menge Blut und der daraus erhaltenen Menge Serum wie 100:46 verhält. Im Anfange wurde das Blut, nachdem es gezapft war, einige Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt, worauf es im Eisschrank gepreßt wurde.



Tabelle VI.

No.	Anzahl der Zapfungen	Schlachtgewicht in Kilogramm	Tuberkulinreaktion	Sektion Tuberkulose	Menge des Serums in Kubikzentimetern		
					aus dem Schwanz	bei der Schlachtung	total
1	8	102	—	—	2800	1400	4 200
2	4	104	+	+	1100	1200	2 300
3	6	84	—	+	1560	800	2 360
4	5	83	—	+	780	900	1 680
5	10	120	—	—	4500	1400	5 900
6	9	107	—	—	3770	1000	4 770
7	10	123	+	+	3640	1300	4 940
8	11	113	—	—	5050	1400	6 450
9	6	123	—	—	1755	1400	3 155
10	7	104	+	+	2535	800	3 335
11	5	85	—	+	1300	800	2 100
12	7	115	—	—	2145	1100	3 245
13	4	105	+	+	1040	1000	2 040
14	5	100	—	—	1495	800	2 295
15	4	88	+	+	780	1000	1 780
16	7	82	+	+	1950	700	2 650
17	4	109	+	+	390	1200	1 590
18	7	97	+	+	2210	1400	3 610
19	8	112	—	—	2600	1100	3 700
20	8	125	—	—	1860	1000	2 860
21	10	118	—	+	3250	1000	4 250
22	8	95	—	+	2730	1300	4 030
23	6	78	+	+	1430	1200	2 630
24	8	93	—	+	2795	1300	4 095
25	9	123	—	+	3165	1500	4 665
26	8	114	+	+	1665	1000	3 665
27	4	97	+	+	910	900	1 810
28	7	89	—	+	2340	1000	3 340
Total	195	2888					93 745

Tabelle VII.

Die 12 Schweine untenstehender Tabelle waren von gekreuzter englischer Rasse Gewicht 990 g, Einkaufspreis 693,— Fl.

No.	Anzahl der Zapfungen aus dem Schwanz	Schlachtgewicht in Kilogramm	Reagiert auf Tuberkulin	Tuberkulose bei der Sektion	Menge des Serums in Kubikzentimetern		
					aus dem Schwanz	bei der Schlachtung	total
1	10	87	—	—	4 560	750	5 310
2	10	114	—	—	4 780	1 500	6 280
3	8	118	—	—	3 147	1 600	4 747
4	8	193	—	—	3 587	750	4 337
5	6	84	—	—	2 247	800	3 047
6	11	195	—	—	5 320	1 009	6 320
7	8	100	—	—	3 600	1 400	5 000
8	7	111	—	—	2 646	1 600	4 246
9	6	91	—	—	2 069	1 500	3 569
10	8	110	—	—	3 336	1 400	4 736
11	7	80	—	—	3 056	1 500	4 556
12	9	87	—	—	4 146	2 000	6 146
Total	98	1193			42 504	15 800	58 304

## Einkauf.

12 Schweine 990 kg	à 0,70 Fl.	p. kg = 693,— Fl.
Futter 150 Tage	à 0,25 „	p. d. = 450,— „
40 Ferkel	à 14,— „	p. st. = 560,— „
Futter 40 Ferkel	à 0,10 „	p. d. = 40,— „
10 Tage		

Total 1743,— Fl.

Also per Liter Serum	16,33 „
per Dosis von 15 ccm	0,24 „

## Verkauf.

12 Schweine 1193 kg	à 0,58 Fl.	p. kg = 691,94 Fl.
40 Ferkel	à 2,50 „	= 100,— „
58 304 l Serum	à 16,33 „	p. l = 951,06 „
Total 1743,— Fl.		

Tabelle VIII.

Die 12 Schweine aus dieser Tabelle wurden in Gelderland gekauft. Es war eine alte, mit deutscher Rasse gekreuzte Landrasse. Sie hatten große Ohren, einen langen Schwanz und waren nicht fett:

No.	Anzahl der Zapfungen aus dem Schwanz	Schlachtgewicht in Kilogramm	Reagiert auf Tuberkulin	Tuberkulös bei der Sektion	Menge des Serums in Kubikzentimeter		
					aus dem Schwanz	bei der Schlachtung	total
1	10	65	—	—	4562	1500	6062
2	12	83	—	—	5620	1000	6620
3	12	75	—	—	5874	1000	6874
4	14	97	—	—	6852	1700	8552
5	11	91	—	—	5720	1650	7370
6	14	169	—	—	7322	2300	9622
7	14	102	—	—	7110	1800	8910
8	10	111	—	—	5130	1350	6480
9	13	62	—	—	6570	1400	7970
10	12	97	—	—	6160	1700	7860
11	14	89	—	—	7200	1700	8900
12	13	92	—	—	6740	1700	8440

Tabelle IX.

No.	Gemessene Menge Blut in Kubikzentimeter	Erhaltene Menge Serum durch Pressung in Kubikzentimeter	Verhältnis	No.	Gemessene Menge Blut in Kubikzentimeter	Erhaltene Menge Serum durch Pressung in Kubikzentimeter	Verhältnis
1	716	272	100 : 38	13	450	140	100 : 31
2	604	262	100 : 43	14	625	292	100 : 47
3	610	306	100 : 50	15	764	344	100 : 45
4	307	170	100 : 55	16	490	265	100 : 54
5	594	312	100 : 51	17	587	225	100 : 38
6	522	238	100 : 46	18	490	163	100 : 37
7	655	362	100 : 55	19	500	235	100 : 47
8	294	142	100 : 48	20	516	209	100 : 40
9	456	216	100 : 47	21	494	215	100 : 44
10	258	127	100 : 49	22	497	233	100 : 47
11	310	170	100 : 55	23	543	240	100 : 44
12	456	200	100 : 44	24	457	230	100 : 50

Es hat sich aber ergeben, daß sich die Menge des Serums erhöht, wenn man das Blut vor dem Pressen und Absaugen einige Tage stehen läßt,

so daß dann das Verhältnis zwischen der Menge Blut und dem daraus erhaltenen Serum die Hälfte und mehr als die Hälfte beträgt.

Auch wurde von einigen gesunden Schweinen, die im Gemeinde-Schlachthaus geschlachtet wurden, das Blut aufgefangen und das Serum nach Defibrinierung durch Zentrifugieren bereitet. Das Blut wurde in einer durch einen Gasmotor getriebenen Zentrifuge 20 Minuten zentrifugiert. Die Umdrehungen betrugen 3000 pro Minute.

Tabelle X.

Defibriniertes Blut	Menge des Serums	Verhältnis
1145	452	100 : 39
790	278	100 : 35
720	325	100 : 45

Durchschnittliches Verhältnis 100 : 40.

### Das Hyperimmunisieren eines Ochsen.

Am 2. Okt. wurde ein Ochse mit 250 ccm Infektionsstoff der Schweinepest subkutan geimpft. Das Tier hatte wenig Nachteil davon, die Freßlust blieb gut, nur die Temperatur stieg etwas. Die Anfangstemperatur war 38,6, die höchste Temperatur betrug 38,9, und nach 36 Stunden war die Temperatur wieder normal. Am 15. Okt. wurde dieses Tier wiederum mit 500 ccm Infektionsstoff subkutan geimpft. Die Temperatur verlief, wie folgt:

15. Okt. 11 Uhr	2 Uhr	4 Uhr	6 Uhr	16. Okt. 6 Uhr	8 Uhr	2 Uhr
38,4	39,—	39,4	39,4	39,2	39,9	38,7

Am 21. Okt. wurde das Tier wiederum mit 450 ccm Infektionsstoff geimpft; es reagierte hierauf beinahe nicht, die Freßlust blieb gut und die Temperatursteigerung war 1°.

Am 29. Okt. erhielt das Tier wiederum 300 ccm Infektionsstoff subkutan:

29. Okt. 4 Uhr	6 Uhr	30. Okt. 6 Uhr	8 Uhr	10 Uhr	12 Uhr
38,5	39,2	39,3	39,1	38,7	38,5

Jetzt trat eine große Schwellung an der Impfstelle auf, welche jedoch schnell wieder verschwand.

Am 11. Nov. wurde das Tier nochmals mit 520 ccm Infektionsstoff geimpft. Hierdurch entstand nur eine Temperatursteigerung von 0,8°. Im ganzen waren dem Ochsen jetzt 2020 ccm Infektionsstoff eingespritzt.

Am 18. Nov. wurde dem Tier zu Ader gelassen, und wurden 3900 ccm Blut abgezapft. Hieraus erhielt man nach Pressung 1900 ccm Serum.

Am 19. Nov. wurden 5 Ferkel mit Schweinepestserum des Ochsen geimpft, 5 Ferkel mit Schweinepestserum von Schweinen und 5 Ferkel dienten als Kontrolltiere. Sie alle kamen in einen infizierten Stall und wurden überdies mit Infektionsstoff gefüttert (s. Tabelle XI).

Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, hat das Ochsen Serum durchaus keine schützende Kraft. Von den 5 mit Schweineserum geimpften Ferkeln sind 2 übrig geblieben, nämlich No. 6 und 10, die im Februar noch am Leben waren. Wohl haben auch diese Ferkel infolge der Infektion eine Temperatursteigerung gehabt, blieben jedoch, trotzdem sie sich täglich aufs neue infizierten, gesund. Wenn man die enorme Menge des Infektionsstoffes in Betracht zieht, die sie täglich erhielten, so braucht man

Tabelle XI.

Ferkel	Gewicht vor der Krankheit in Kilogramm	Gewicht bei der Schlachtung in Kilogramm	Temperaturen														
			November													Dezember	
			19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	1.	2.	
Geimpft mit Schweinepestserum des Ochsens.																	
1	17,1	14	40,4	39,3	39,4	41,9	41,6	41,4	41,3	41,6	gest.						
2	16	14	39,8	39,3	39,3	41,6	41,6	41,6	39,9	37,8	gest.						
3	16	13,5	39,5	39,2	39,4	41,8	41,3	40,9	39,7	38,7	gest.						
4	16	14,5	40,1	39,3	39,5	41,3	41,8	41,4	41,1	40,9	39,9	geschl.					
5	20	17,5	39,6	39,6	39,3	41,8	40,9	40,6	39,3	gest.							
Geimpft mit Schweinepestserum vom Schwein.																	
6	16,5		39,5	39,6	39,2	41,2	40,8	41,5	41,3	41,4	41,6	40,1	40,2	40,2	39,8	39,8 usw.	
7	16	14	40,2	40	39,5	41,8	41,4	41,6	41,6	41,5	41,6	41,8	41,7	gest.			
8	15	13	40,1	39,9	39,7	41,7	41,3	41,7	41,6	41,4	41,4	41,2	41,1	geschl.			
9	15	13,5	39,8	40,3	39,8	41,3	41,8	41,5	41,7	41,4	41,5	41,8	41,9	geschl.			
10	18,5		39,8	39,9	39,8	40,8	41,3	41,3	41,3	40,8	40,7	40,6	40,5	39,6	39,7	39,6 usw.	
Kontrollschweine.																	
11	16,5	13,5	39,7	39,8	39,3	41,5	41,4	41,2	40,8	40,5	gest.						
12	17,5	13,5	39,9	39,8	39,4	41,5	41,3	gest.									
13	14,5	12	39,7	39,3	39,4	41,5	41,8	41,5	40,5	geschl.							
14	14,5	13,5	39,9	39,5	39,4	41,7	41,7	41,6	41,3	41,4	gest.						
15	18	15	39,8	39,6	39,3	41,4	41,5	41,4	41,5	41,4	41,3	40,6	geschl.				

sich nicht zu wundern, daß die No. 7, 8 und 9 an der Krankheit starben. Im allgemeinen darf man derartigen Versuchen nicht zuviel Wert beimessen, besser kann man die Resultate aus der Praxis abwarten.

### Resultate mit dem Serum gegen die Schweinepest von Schweinen in der Praxis.

Auf Verlangen wird das Serum gegen die Schweinepest den Tierärzten ausgehändigt. Beim Versand wird folgendes Zirkular beigelegt:

L. S.

Das Serum gegen die Schweinepest darf ausschließlich Schweinen eingespritzt werden, welche gesund und der Infektion ausgesetzt sind, oder Schweinen, die in sehr geringem Maße leidend sind. Bei Tieren, welche nicht der Infektion ausgesetzt sind und deshalb nicht während oder kurz nach der Impfung den Infektionsstoff aus der Umgebung aufnehmen, ist die Immunität nur von kurzer Dauer. Nicht der Infektion ausgesetzte Tiere, welche doch geimpft werden, müssen aufs neue mit Serum geimpft werden, wenn später eventuell wirklich ein Fall von Pest auftritt. Werden Schweine direkt oder kurz nach der Impfung infiziert, so bleiben sie auf die Dauer unempfindlich für die Krankheit. Die einzuspritzende Dosis Schweinepestserum beträgt jedesmal 15 bis 20 ccm, je nach der Größe des Schweines. Ferkel von einigen Tagen erhalten 5 ccm, und wenn sie gesäugt werden, nochmals eine Menge von 10 ccm Serum.

Die Impfung mit dem Serum hat, falls die Tiere unmittelbar vor, während oder unmittelbar nach der Operation infiziert werden, in der Regel eine aktive Immunität zur Folge, wodurch sie für ihre Lebensdauer unempfindlich bleiben. Diese sehr spezielle Eigenschaft bei der Serumimpfung gegen die Schweinepest scheint ein mächtiges Mittel zur Bekämpfung der Krankheit zu sein.

Tabelle XII.

Bei R. in P. durch Tierarzt S. in P. am 12. Okt. 40 Schweine geimpft.	+	Krankheit und Sterblichkeit kommen vor. Es sind 29 gesunde und alle kranken Schweine geimpft. Am 18. Okt. waren alle kranken genesen und die gesunden sind wohl geblieben.
Bei H. in R. durch Tierarzt F. in H. am 3. Okt. 74 Schweine geimpft.	+	Krankheit und Sterblichkeit kommen vor. Es wurden 74 Schweine geimpft. Nach der Impfung 3 gestorben. Die übrigen blieben gesund. Der Eigentümer war sehr zufrieden mit dem Resultate.
Bei O. in B. durch Tierarzt F. in H. am 24. Okt. 52 Schweine geimpft.	+	Krankheit und Sterblichkeit kommen vor. 4 Tage nach der Impfung waren 2 Kranke genesen. Am 20. Nov. alle sehr wohl. Eigentümer ist sehr zufrieden.
Bei R. in B. durch Tierarzt F. in H. am 24. Okt. 11 Schweine geimpft.	+	Viel Krankheit und Sterblichkeit. Nach der Impfung sind alle gesund geblieben. Am 20. Nov. waren alle sehr wohl.
Bei K. in R. durch Tierarzt F. in H. am 26. Okt. 5 Schweine geimpft.	-	Viel Krankheit und Sterblichkeit. Bei der Impfung sind alle krank und leben unter sehr schlechten hygienischen Umständen. Alle sind 2 Tage nach der Impfung gestorben.
Bei C. in B. durch Tierarzt F. in H. am 26. Okt. 24 Schweine geimpft.	+	Viel Krankheit und Sterblichkeit. Nach der Impfung ist noch 1 Tier gestorben. Am 29. Nov. wurden einige kastriert und geringt. Einzelne sind wieder krank geworden und darum aufs neue mit Serum eingespritzt. Alle sind genesen.
Bei B. in B. durch Tierarzt F. in H. am 31. Okt. 34 Schweine geimpft.	+	Viel Krankheit und Sterblichkeit, auch herrscht Brustseuche unter der Herde. Am 18. Nov. sind nur noch 10 Schweine übrig, die gesund geblieben sind.
Bei K. in B. durch Tierarzt F. in H. am 31. Okt. 40 Schweine geimpft.	+	Viel Krankheit und Sterblichkeit. 14 Tage nach der Impfung noch 1 Tier gestorben. Am 29. Nov. sind die übrigen gesund; Eigentümer sehr zufrieden.
Bei V. in B. durch Tierarzt F. in H. am 7. Nov. 48 Schweine geimpft.	-	Viel Krankheit und Sterblichkeit. Die Tiere husten sehr. Bei Impfung sind viele krank. Am 23. Nov. noch 23 Ferkel am Leben.
Bei A. in B. durch Tierarzt F. in H. am 7. Nov. 18 Schweine geimpft.	-	Viel Krankheit und Sterblichkeit. Einige Zeit vorher sind sie auch mit Brustseuchenserum behandelt worden. Es sind noch 2 gestorben. 8 sind übrig geblieben und 8 sind aufgeräumt.
Bei B. in B. durch Tierarzt F. in H. am 7. Nov. 10 Schweine geimpft.	+	Unter dieser Herde herrscht die Krankheit. Am 14. Dez. kranke Ferkel genesen; die übrigen gesund.
Bei B. in B. durch Tierarzt F. in H. am 7. Nov. 9 Schweine geimpft.	+	Viel Krankheit und Sterblichkeit. Am 19. Nov. sind die kranken genesen; die anderen sind gesund geblieben.
Bei G. in B. durch Tierarzt F. in H. am 8. Nov. 38 Schweine geimpft.	+	Krankheit und Sterblichkeit. Nach der Impfung sind noch 5 gestorben; die übrigen sind gesund geblieben.
Bei F. in N. durch Tierarzt O. in G. am 8. Nov. 170 Schweine geimpft.	+	Am 23. Nov. sind die Schweine nach der Impfung mit Pest- und Brustseuchenserum genesen.
Bei V. in N. durch Tierarzt H. in G. am 8. Nov. 8 Schweine geimpft.	+	Krankheit und Sterblichkeit. Nach der Impfung sind alle gesund geblieben.
Bei K. in B. durch Tierarzt H. in G. am 12. Nov. 17 Schweine geimpft.	-	Alle Schweine sind direkt nach der Impfung aufgeräumt.
Bei N. in B. durch Tierarzt F. in H. am 6. Nov. 12 Schweine geimpft.	+	Heftige Sterblichkeit kommt vor. Am 18. Nov. sind alle gesund.

Bei S. in H. durch Tierarzt F. in H. am 9. Nov. 9 Schweine geimpft.	+	Heftige Sterblichkeit und Krankheit. Am 29. Nov. ist 1 krankes Ferkel gestorben, die übrigen sind gesund geblieben.
Bei H. in B. durch Tierarzt F. in H. am 11. Nov. 16 Schweine geimpft.	-	Am 14. Dez. noch 6 Ferkel übrig, die gesund sind. Die Krankheit herrschte hier jedoch schon lange; es starben viele Tiere.
Bei H. in B. durch Tierarzt F. in H. am 14. Nov. 19 Schweine geimpft.	+	Resultat am 14. Dez. war, daß 1 Ferkel, das bei der Impfung bereits krank war, gestorben ist. Die übrigen blieben gesund; Eigentümer war sehr zufrieden.
Bei V. in B. durch Tierarzt F. in H. am 15. Nov. 16 Schweine geimpft.	+	Die Schweine, welche bei der Impfung krank waren, sind wieder genesen; die übrigen sind gesund geblieben.
Bei R. in S. durch Tierarzt F. in H. am 18. Nov. 18 Schweine geimpft.	+	In der Umgegend herrscht die Pest. Am 29. Nov. ist 1 Ferkel gestorben; die übrigen sind gesund geblieben.
Bei V. in B. durch Tierarzt F. in H. am 20. Nov. 14 Schweine geimpft.	+	Krankheit und Sterblichkeit. Resultat am 29. Nov. nach der Impfung kein Sterbefall mehr.
Bei M. in B. durch Tierarzt F. in H. am 20. Nov. 3 Schweine geimpft.	+	Am 29. Nov. schienen die 3 Schweine durch die Einspritzung genesen zu sein.
Bei K. in W. durch Tierarzt H. in R. am 22. Nov. 42 Schweine geimpft.	+	Resultat am 13. Dez.: Die 8 Schweine, die bei der Impfung heftig krank waren, sind gestorben. Die übrigen, wovon die meisten auch krank waren, sind alle genesen oder gesund geblieben.
Bei H. in S. durch Tierarzt F. in H. am 4. Nov. 14 Schweine geimpft.	+	Es herrscht Krankheit und Sterblichkeit in der Herde. Nach der Impfung sind sie alle gesund geblieben.
Bei W. in P. durch Tierarzt F. in H. am 23. Nov. 41 Schweine geimpft.	+	In der Herde herrscht die Krankheit stark. Nach der Impfung sind alle gesund geblieben.
Bei T. in N. durch Tierarzt H. in G. am 13. Nov. 10 Schweine geimpft.	+	Es herrscht Krankheit und Sterblichkeit. Am 22. Nov. mitgeteilt, daß keine Krankheit mehr geherrscht hat.
Bei B. in Z. durch Tierarzt H. in G. am 22. Nov. 20 Schweine geimpft.	+	Resultate am 29. Nov.: 2 Schweine, welche bei der Impfung bereits krank waren, sind gestorben; die übrigen gesund geblieben.
Bei R. in B. durch Tierarzt F. in H. am 22. Nov. 20 Schweine geimpft.	+	Resultat am 11. Jan.: Krankheit und Sterblichkeit. 1 krankes Tier ist genesen, 5 schlechte Ferkel sind gestorben; die übrigen sind gesund geblieben.
Bei N. in O. durch Tierarzt R. in O. am 22. Nov. 41 Schweine geimpft.	+	Krankheit und Sterblichkeit. 3 kranke Ferkel sind noch gestorben; die übrigen sind gesund geblieben.
Bei V. in N. durch Tierarzt R. in O. am 26. Nov. 4 Schweine geimpft.	+	Nach der Impfung sind alle Tiere genesen.
Bei B. in B. durch Tierarzt F. in H. am 25. Nov. 32 Schweine geimpft.	+	Bei der Impfung waren viele Tiere krank. Es sind 25 am Leben geblieben.
Bei L. in H. durch Tierarzt F. in H. am 2. Dez. 16 Schweine geimpft.	+	Vor der Impfung sind 3 gestorben; nach der Impfung noch 1. Am 11. Jan. sind die übrigen gesund.
Bei L. in H. durch Tierarzt F. in H. am 2. Dez. 8 Schweine geimpft.	+	Am 11. Jan. waren die Ferkel gesund.
Bei H. in O. durch Tierarzt R. in O. am 4. Dez. 15 Schweine geimpft.	+	Krankheit und Sterblichkeit. Nach Impfung keine Krankheit und Sterblichkeit mehr. Am 15. Dez. sind alle noch gesund.
Bei R. in N. durch Tierarzt R. in O. am 13. Dez. 9 Schweine geimpft.	+	Krankheit und Sterblichkeit. Nach der Impfung blieben die Schweine gesund, keine Krankheit oder Sterblichkeit mehr.
Bei H. in O. durch Tierarzt V. in O. am 3. Dez. 8 Schweine geimpft.	+	Krankheit und Sterblichkeit. 1 krankes Ferkel ist noch nach der Impfung gestorben. Die übrigen, worunter auch kranke, sind am 23. Dez. vollständig genesen.

### Schlußfolgerungen.

1) Das Serum von Schweinen gegen die Schweinepest hat eine schützende Wirkung gegen diese Krankheit.

2) Die Impfung mit dem Serum hat, wenn die Tiere unmittelbar vor, während oder unmittelbar nach der Operation infiziert werden, in der Regel aktive Immunität zur Folge.

3) Werden nicht der Infektion ausgesetzte Tiere doch geimpft, so müssen sie aufs neue mit Serum eingespritzt werden, wenn später eventuell wirklich ein Fall von Pest auftritt.

4) Das Serum hat nicht nur prophylaktische, sondern auch ziemlich starke kurative Wirkung im Anfangsstadium der Krankheit.

5) Das Serum vom gegen Schweinepest immunisierten Rind hat keine schützende Wirkung gegen diese Krankheit.

6) Die Methode der Serumbereitung durch Gerinnen und Pressen ist bei weitem jener des Defibrinierens und Zentrifugierens vorzuziehen.

7) Es ist wünschenswert, Schweine vorher zu tuberkulinisieren und die reagierenden Tiere von der Serumbereitung auszuschließen.

8) Die aus dem Blut durch Gerinnung und Auspressung erhaltene durchschnittliche Menge des Serums beträgt die Hälfte und mehr als die Hälfte.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. J. Poels, Direktor des Reichsseruminstituts zu Rotterdam, und Dr. B. J. C. te Hennepe, Tierarzt und Bakteriolog an diesem Institut, für die mir gewährte Unterstützung bei dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

### Literatur.

- 1) Salmon, Investigation of swine diseases (Hog Cholera) and infectious pneumonia in swine (swine plague.) (Report of the Commissioner of Agricult. for 1886.)
- 2) Salmon u. Smith, Hog Cholera, its history, nature and treatment as determined by the inquiries and investigations of the Bureau of animal industry. (Washington 1889.)
- 3) Schweinitz, The serum treatment of swine plague and hog cholera. (U. S. Departm. of Agricult. Bureau of anim. Industr. Washington Bull. 1891. No. 23. Med. News of Philadelphia. October 1892.)
- 4) Preisz, Aetiologische Studien über Schweinepest und Schweineseptikämie. 1887.
- 5) Schreiber, Zur Schutzimpfung gegen die Schweineseuche und Heilung derselben durch Serum und Neues über Serumimpfungen. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1899. — Neues auf dem Gebiete der Bekämpfung der Schweineseuche. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1902;) — Beiträge zur Bekämpfung der Schweineseuche und Schweinepest. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. p. 588.)
- 6) Wassermann u. Ostertag, Ueber Immunisierungsversuche gegenüber Schweinebakterien. (Monatsschr. f. prakt. Tierheilk. Bd. XIII.) — Ueber polyvalente Sera mit besonderer Berücksichtigung der Immunität gegenüber den Erregern beim Schwein.
- 7) Poels, De varkensziekten in Nederland 1905.
- 8) Dorset, New facts concerning the etiology of hog cholera by E. A. Schweinitz and M. Dorset (Bureau of anim. Industry 1903.)
- 9) Poels, Jaarverslag van de Ryksseruminrichting 1904—1905. p. 46.
- 10) Dorset, Bolton u. Mc. Bryde, The etiology of the hog cholera. (Biochem. Division, Bureau of anim. Industry, U. S. Departm. of Agricult. Bull. 1905. No. 2.)
- 11) Theiler, Die Schweineseuche und Schweinepest in Süd-Afrika (Zeitschr. d. vet. Hyg. 1906. H. 6.)

- 12) Hutyra, Zur Aetiologie der Schweinepest und Schweineseuche. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1906. No. 2.)
- 13) Ostertag u. Stadie, Weitere Untersuchungen über die Filtrierbarkeit des Virus der Schweineseuche und der Schweinepest. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.-Krankh. Bd. 2. 1907. H. 2.)
- 14) Bureau of anim. Industry.
- 15) Niles, W. B., Field test with serum for the prevention of hog cholera. (Bureau of anim. Industry 1908.)
- 16) Melvin, A. D., The control of hog cholera by serum immunisation 1908.
- 17) Uhlenhuth, Hübner, Xylander u. Boths, Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt. 1908. XXVI. 1. 1909; XXX. 27. Lit.)
- 18) Hutyra u. Wetzl, Schutzimpfungen gegen Schweinepest. (Zeitschr. f. Infekt.-Krankh. der Haustiere. Bd. VI. p. 1; siehe auch Berlin. tierärztl. Wochenschr. p. 863.)
- 19) Maxer, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1908.
- 20) King, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1908.
- 21) Eichhorn, Adolf, The preparation of hog cholera serum in Hungary (Bureau of anim. Industry 1910.)
- 22) Wolf-Eisner u. Klimmer Max, Handbuch der Serum-Therapie u. Serum-diagnostik in der Veterinärmedizin.
- 23) Glässer, Die Krankheiten des Schweines. Hannover 1912.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber neuere Verfahren zum Nachweis von Diphtheriebacillen und ihre praktische Bedeutung.

[Aus dem Königl. Hygienischen Institut in Posen.  
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. E. Wernicke.]

Von

**Dr. E. Gildemeister,**

und

**Dr. Günther,**

wissenschaftlichem Mitgliede des Instituts, Oberarzt b. Inf.-Reg. 46, komm. zum Institut.

In letzter Zeit sind von verschiedenen Seiten Methoden zur Verbesserung der bakteriologischen Diphtheriediagnose angegeben worden, die im großen und ganzen Modifikationen bisher geübter Methoden darstellen. Wenn auch ein Teil der vorgeschlagenen Aenderungen bereits eine Nachprüfung erfahren hat, erschien es uns bei der Wichtigkeit des Gegenstandes nicht unzweckmäßig, unsere Erfahrungen mit verschiedenen dieser neuen Methoden bekannt zu geben.

Die Untersuchung des Originalausstrichpräparates aus diphtherieverdächtigem Materiale hat bei Anwendung der bisher üblichen Färbemethoden (Loefflers Methylenblau, Gram-Färbung und M. Neissers Doppelfärbung) wenig befriedigende Resultate gezeitigt, so daß man wohl zumeist überhaupt auf die Untersuchung des Originalausstrichpräparates verzichtet hat. Es unterliegt aber keinem Zweifel, daß eine Methode, welche die Aussichten, die bakteriologische Diphtheriediagnose bereits aus dem Originalausstrichpräparat zu stellen, vergrößert, unbedingt als ein Fortschritt zu bezeichnen sein würde.

Gins hat versucht, durch Modifizierung der M. Neisserschen Doppelfärbung dieses Ziel zu erreichen. Die Aenderung, die er vorschlägt, besteht darin, daß eine kurze Färbung mit Milchsäure-Lugollösung eingeschaltet wird. Gins fand, daß nach Einschaltung dieser Färbung sich die äußere Form des Diphtheriebacillus entschieden deutlicher darstellt, als nach der gewöhnlichen Doppelfärbung. Er fand ferner, daß die Jod-



lösung auf den von den Polkörnern aufgenommenen blauen Farbstoff konservierend zu wirken scheint, so daß die Körner zumeist intensiver gefärbt und größer erscheinen, als man es zu sehen bisher gewöhnt war.

Die Färbung nach Gins wird in folgender Weise ausgeführt:

- 1) Färbung mit Neisser I (Essigsäure-Methylenblau und Kristallviolett) einige Sekunden. Abspülen mit Wasser;
- 2) Behandlung mit Lugolscher Lösung, die auf 100 Teile 1 Teil konzentrierter Milchsäure enthält, etwa 3—5 Sekunden. Gut abspülen, weil sonst Reste der Jodlösung mit dem Chrysoidin Niederschläge bilden;
- 3) Nachfärben mit Chrysoidin einige Sekunden. Abspülen. Trocknen.

Mit dieser Methode hat Gins Original-Ausstrichpräparate von 385 frischen Rachenerkrankungen untersucht, zum Vergleich wurde die Neissersche Doppelfärbung herangezogen. Von den 385 Ausstrichen wurden durch das Kulturverfahren 155 als positiv ermittelt. Von diesen 155 Fällen konnte er bereits 59 Proz. als positiv im Originalausstrichpräparat erkennen, während die gewöhnliche M. Neissersche Doppelfärbung nur 29 Proz. positiver Resultate lieferte.

Gins hat auch bei Rekonvaleszenten in gleicher Weise Untersuchungen ausgeführt und hierbei erheblich weniger günstige Resultate erzielt, was von ihm darauf zurückgeführt wird, daß bei Diphtheriegenesenden nur sehr wenig Material am Entnahmeapparat haften bleibt, nachdem die Beläge geschwunden sind. Für die Praxis kommt die Untersuchung der Originalausstriche von Rekonvaleszenten kaum in Frage.

Wir haben nun nach der Ginsschen Methode Originalausstrichpräparate von 250 frischen Rachen- bzw. Nasenerkrankungen untersucht, wobei zu bemerken ist, daß die Zahl der untersuchten Nasenerkrankungen sich auf einige wenige Fälle beschränkte. Von diesen 250 Abstrichen wurden 85 durch das Kulturverfahren als positiv erkannt. Im Originalausstrichpräparat nach Gins waren positiv 40 (=47,06 Proz.) und nach M. Neisser 20 (=23,5 Proz.)

Wir können die Angaben von Gins durchaus bestätigen, daß durch die eingeschobene Milchsäure-Jodlösungsfärbung die Bacillenleiber erheblich deutlicher sichtbar werden und die Polkörner intensiver gefärbt in die Erscheinung treten. Durch die Jodlösung wird aber außerdem der ganze Untergrund des Präparates, bestehend aus Zellen und Membranmassen mehr hervorgehoben, wodurch das Suchen der Diphtheriebacillen wesentlich erleichtert wird, während bei der Neisserschen Doppelfärbung Zellen und sonstige im Abstrich befindliche Massen kaum oder gar nicht gefärbt werden, so daß das Suchen nach Bacillen in dem fast leeren Gesichtsfelde erheblich mühsamer ist.

Als positiv haben wir nur solche Fälle angesprochen, bei denen mehrere Bacillen in einem Gesichtsfelde gefunden wurden, die nach Form, Lagerung und Färbung als Diphtheriebacillen angesprochen werden mußten. Unsere mikroskopischen Resultate stimmten in allen Fällen mit den kulturellen durchaus überein.

Diagnostische Schwierigkeiten, auf die Gins schon hingewiesen hat, können dann entstehen, wenn *Leptothrix buccalis* nicht in längeren Fäden, sondern nur in kurzen Gliedern vorhanden ist. Beachtet man jedoch, daß diese die Körnchen nicht wie die Diphtheriebacillen am Ende zeigen, so sind sie hieran bei genügender Uebung unschwer zu erkennen.

Wir haben, wie schon angeführt, in 23 Proz. der kulturell positiven Fälle nach der Neisserschen Doppelfärbung zwar auch ein positives Resultat erhalten, die Zahl der typisch gefärbten Diphtheriebacillen war aber fast durchgängig geringer als in den mit Jod behandelten Präparaten. Die Gins'sche Färbung bietet nicht nur den Vorteil, daß sie die Diagnose in der doppelten Zahl der Fälle ermöglicht, sondern daß sie auch ganz wesentlich die Durchmusterung des Ausstriches erleichtert.

Diese Modifikation der Neisserschen Doppelfärbung kann, wie Gins ausdrücklich hervorhebt, das Kulturverfahren nicht ersetzen, sie kann aber in der Hand des geübten Untersuchers recht Nützliches leisten, da sie ungefähr in der Hälfte der kulturpositiven Fälle die frühzeitige Diagnose gestattet. Ihr negativer Ausfall ist naturgemäß für die Diagnose des Falles nicht zu verwenden.

Für die Färbung diphtherieverdächtiger Kulturausstriche möchten wir weiterhin die Anwendung der M. Neisserschen Doppelfärbung empfehlen, wie dies ja auch Gins selbst tut. Die Deutlichkeit der Bilder nimmt bei der modifizierten Färbung nicht wesentlich zu, es kann aber leicht — namentlich bei etwas dickeren Ausstrichen — durch die Jodlösung eine Ueberfärbung der Bakterien eintreten, welche die Durchmusterung des Präparates nicht erleichtert.

Auf Grund unserer Untersuchungsergebnisse können wir der von Gins ausgesprochenen Ansicht beitreten, daß die von ihm angegebene Modifikation der Neisserschen Doppelfärbung besonders geeignet ist für die Besichtigung von Originalpräparaten aus frischen Rachenfällen.

Von den vorgeschlagenen Änderungen im kulturellen Nachweise der Diphtheriebacillen sei der von Conradi und Troch angegebene Nährboden zunächst besprochen, der sich von der Loefflerschen Serumplatte dadurch unterscheidet, daß Rinder- statt Hammelserum Verwendung findet, daß die Traubenzuckerbouillon 0,6 Proz. Calcium bimalicum zur Hemmung des Wachstums der Begleitbakterien enthält, und daß dem Serumbouillongemisch 0,02 Proz. Kalium tellurosum zugesetzt wird. Letzterer Bestandteil verleiht dem neuen Nährboden seinen besonderen Charakter. Auf der Tellurplatte wachsen die Diphtheriebacillen in schwarzen Kolonien, was auf Reduktion des Tellurs durch die Diphtheriebacillen beruht.

Conradi und Troch gingen in der Weise vor, daß sie zuerst die Loefflersche Serumplatte und alsdann den Tellurnährboden verwendeten. Erstere sollte zur Anreicherung und zum Nachweis der Diphtheriebacillen dienen, letztere nur zum Nachweis. Der Rachenabstrich wird zunächst auf einer Loeffler-Platte ausgestrichen, nach 3-stündiger Bebrütung wird die eine Hälfte der Loeffler-Platte mit einem sterilen, in steriler Kochsalzlösung angefeuchteten Wattespatel sorgfältig abgerieben. Der so beschickte Wattespatel wird alsdann über eine angewärmte Tellurplatte ausgestrichen. Die teilweise entkeimte Loeffler-Platte wird nach 8 Stunden in der üblichen Weise untersucht. Nur wenn diese Untersuchung negativ ausfällt, findet nach 20-stündiger Bebrütung eine Besichtigung der Tellurplatte statt.

Conradi und Troch geben an, daß sie die Befunde von Diphtheriebacillen mit Hilfe der Tellurplatte haben verdoppeln können. Sie konnten unter 200 diphtherieverdächtigen Proben von Rachen- und Nasenabstrichen, die gleichzeitig auf einer Loeffler- sowie auf einer Tellurplatte in der angegebenen Weise untersucht wurden, 121mal Diphtheriebacillen nach-

weisen, und zwar 114mal auf der Tellur- und 59mal auf der Loeffler-Platte. Diese außerordentliche Erhöhung der positiven Resultate wird nach Ansicht der Autoren dadurch erzielt, daß auf der Tellurplatte infolge der Schwarzfärbung der Diphtheriekolonien ein Uebersehen auch spärlicher Diphtheriekolonien unmöglich ist.

Die Tellurplatte nach Conradi und Troch hat bereits von verschiedenen Seiten eine Nachprüfung erfahren, deren Ergebnis hier kurz angeführt sei. Wagner bemängelt zunächst den durch das neue Verfahren bedingten Mehrverbrauch an Nährboden, der an Untersuchungsstellen mit zahlreichen Diphtherieuntersuchungen nicht gleichgültig sein kann, und hebt ferner hervor, daß die erforderliche dreistündige Anreicherung auf Loeffler-Serum in zahlreichen Fällen (Abendeingänge) nicht durchführbar ist. Vor allem aber weist er sehr mit Recht darauf hin, daß Conradi und Troch bei ihren vergleichenden Untersuchungen dem altbewährten Loeffler-Serum nicht die gleichen Chancen gewährt haben wie ihrer Tellurplatte. Die Untersuchung der Loeffler-Platte schlossen sie bereits nach 11 Stunden ab, die der Tellurplatte dagegen erst nach 20 Stunden. Es war also das Loeffler-Serum von vornherein im Nachteil. Wagner glich diesen Fehler aus und prüfte beide Nährmedien nach annähernd gleicher Bebrütungsdauer. Das Resultat war infolgedessen alsbald ein anderes; unter 114 diphtherieverdächtigen Fällen waren 43 auf Loeffler-Serum und nur 41 auf der Tellurplatte positiv. Loeffler-Serum und Tellurplatte erwiesen sich also als annähernd gleichwertig, eine Ueberlegenheit der letzteren fand Wagner jedenfalls nicht.

Diphtheriebacillen weisen, wie Wagner hervorhebt, auf der Tellurplatte nicht immer nach 20 Stunden bereits tiefe Schwarzfärbung auf, und auch Begleitbakterien können zuweilen tiefschwarz wachsen. Wagner erkennt aber an, daß die schwarze Färbung der Diphtheriebacillen eine Erleichterung für die Untersucher bedeuten kann, was ihn dann veranlaßte, die Tellurplatte in der Richtung zu prüfen, ob sie nicht ohne das umständliche Anreicherungsverfahren zu verwenden ist. Tatsächlich konnte er bei direktem Ausstrich auf Tellurnährboden etwas mehr positive Resultate als auf Loeffler-Serum erzielen.

Klunker, der sowohl das Anreicherungsverfahren wie den direkten Ausstrich auf Tellurnährboden geprüft hat, kann eine Erleichterung der Diagnose in der schwarzen Färbung der Diphtheriekolonien nicht erblicken, da auch andere Bakterien gleichfalls schwarz wachsen können und ein Uebersehen von Diphtheriebacillen in solchen Fällen ebensogut möglich ist wie auf der Loeffler-Platte.

Eine günstige Beurteilung erfährt die Tellurplatte durch Schürmann und Hajós. Die Originalmethode (Anreicherung auf Loeffler-Serum) lieferte ihnen auf der Tellurplatte 32,3 Proz., auf der Loeffler-Platte nur 25,1 Proz. positiver Resultate bei annähernd gleich langer Bebrütung beider Platten. Noch günstiger war das Ergebnis bei direktem Ausstrich auf Tellurplatten, indem die Zahl der positiven Fälle auf 37,5 Proz. stieg bei 25,5 Proz. auf Loeffler-Serum. Sie konnten weiterhin nachweisen, daß in flüssigen Tellurnährböden eine stärkere Anreicherung der Diphtheriebacillen stattfindet als in gewöhnlicher Bouillon. Schürmann und Hajós sehen in dem Zusatz von Tellur zum Loeffler-Serum eine Erleichterung der Diphtheriediagnose, halten aber noch weitere systematische Untersuchungen zur endgültigen Beurteilung des Wertes der Tellurnährböden für die praktische Diphtheriediagnose für notwendig.

Nach Ansicht von Knoll wird durch das Tellurverfahren weder die Schnelligkeit noch die Sicherheit der Diagnose erhöht. Bei den Untersuchungen, die Hanau im Uhlenhuthschen Institut in Straßburg ausführte, erwies sich, wie Dold berichtet, das Conradi-Trochsche Verfahren dem Loeffler-Serum nicht überlegen. Auch Seligmann sieht in der Verwendung der Tellurnährböden keinen Vorteil. Trautmann und Gähtgens sehen von der Verwendung der Tellurplatten für die täglichen Diphtherieuntersuchungen ab, da das bewährte Loeffler-Serum billiger, bequemer und leichter steril herzustellen ist und schnellere und sichere Diagnosen gestattet.

Heymann fand, daß die positiven Resultate sich durch Verwendung der Tellurplatte absolut zwar nicht vermehren lassen, daß aber immerhin in einigen Fällen — denen allerdings bei seinen Untersuchungen noch mehr Fälle auf der Loeffler-Platte gegenüberstehen — ein positives Ergebnis nur auf der Tellurplatte erzielt wird. Heymann schlägt deshalb vor, um auch diese Fälle auf der Loeffler-Platte zu fangen, zunächst einen Ausstrich auf Loeffler-Serum anzulegen, der nach 6 Stunden zu untersuchen ist, und, falls die Untersuchung negativ ausfällt, von der ersten Platte eine 2. Loefflerplatte anzulegen. Auf diese Weise habe er die wenigen Versager, die noch durch die Tellurplatte aufgedeckt wurden, ganz ausgeschaltet. Auf diese von Heymann vorgeschlagene Methode werden wir noch später näher einzugehen haben.

Nicht ohne Interesse ist es, daß das Hygienische Institut in Halle nach dem Berichte von Ungermann im allgemeinen an der überall gebräuchlichen Unter-

suchungsmethode festgehalten hat. Ueber den Tellurnährboden äußert sich Ungermann folgendermaßen: „Wir gelangten mit Hilfe dieses Verfahrens in einem gewissen Prozentsatze der untersuchten Fälle zu einem positiven Resultat, während die Loeffler-Platte dasselbe nicht zeigte.“ „Für die Bedürfnisse der Praxis ist die lange Dauer der Untersuchungen und auch die immerhin beschränkte Haltbarkeit des Nährbodens störend. Eine gewisse Erschwerung der Untersuchung der Tellurplattenpräparate wird durch das öftere Auftreten schwarzer Körnchen, die den Polkörnchen der Diphtheriebacillen ähnlich sehen können, in andersartigen Bacillen bedingt. Die deswegen zur Vermeidung von Irrtümern notwendig werdende genauere Durchmusterung der Präparate macht sich bei der Durchsicht einer großen Zahl durch den erheblichen Zeitverbrauch deutlich bemerkbar. Jedenfalls erscheint uns die Tellurplatte im ganzen doch als ein Fortschritt auf dem Wege, die Diphtheriediagnose zu vereinfachen und sicherer zu gestalten, dessen praktischer Wert allerdings hinter seinem theoretischen Interesse zurückbleibt.“

Es sei uns nun gestattet, über unsere Erfahrungen mit dem Tellurnährboden zu berichten. Bezüglich der Zusammensetzung des Nährbodens hielten wir uns genau an die von Conradi und Troch gegebene Vorschrift. Für die Herstellung des Nährbodens verwenden sie eine eigens für diese Zwecke konstruierte, auf 85—90° C eingestellte Erstarrungsplatte. Zur Verhütung der Ansammlung von Kondenswasser werden von ihnen Papiereinlagen empfohlen, die durch eine Metallfeder an der Innenseite des Glasdeckels angebracht werden. Wir versuchten, ohne die Erstarrungsplatte auszukommen, die immerhin ca. 55 M. kostet, und stellten uns wie Wagner und Klunker den Nährboden in dem üblichen Serumerstarrungsapparate her. Wir gingen hierbei so vor, daß wir die Nährbodenplatten mindestens 2 Stunden bei einer Temperatur von 80 bis höchstens 85° ließen und am nächsten Tage nochmals 1 Stunde bis auf 80° erhitzten. Es gelingt zumeist, auf diese Weise gut erstarrte Platten von Elfenbeinfarbe zu erhalten. Bei nicht genügender Kontrolle des Erstarrungsapparates kann zuweilen auch der Nährboden mißraten. Bemerkt sei noch, daß stets frisches Rindereserum zur Verwendung kam. Die Beobachtung von Wagner und Klunker können wir bestätigen, daß eine 15 Minuten währende Erhitzung des Nährbodens auf 85° nicht genügt, um ihn zum Erstarren zu bringen. Zum Aufsaugen des Kondenswassers verwandten wir die von Klunker empfohlenen amerikanischen porösen Tondeckel, die von der Firma Ernst Ziegler in Jena zu beziehen sind. Diese Tondeckel sind leicht zerbrechlich, sonst aber recht brauchbar; erforderlich ist jedoch, daß der Nährboden in ziemlich dicker Schicht ausgegossen wird, weil er sonst bei längerem Aufbewahren zu sehr austrocknet.

Wir haben nun sowohl die Originalmethode nach Conradi und Troch, als auch den von Wagner vorgeschlagenen direkten Ausstrich auf Tellurplatten geprüft. In allen Fällen wurden Loeffler- und Tellurplatte nach annähernd gleicher Bebrütungsdauer untersucht. Unsere Versuche ergaben nachstehendes Resultat:

Aussaat auf Tellurplatte nach 3-stündiger Anreicherung auf Loeffler-Serum.		Direkte Aussaat auf Tellurplatte	
Zahl der untersuchten Fälle	150	Zahl der untersuchten Fälle	151
Positiv auf beiden Nährböden	50	Positiv auf beiden Nährböden	46
Positiv nur auf Tellurplatte	4	Positiv nur auf Tellurplatte	5
Positiv nur auf Loeffler-Platte	6	Positiv nur auf Loeffler-Platte	3
Gesamtzahl der positiven Fälle	60	Gesamtzahl der positiven Fälle	54

Aus den beiden vorstehenden Zusammenstellungen geht hervor, daß die Leistungsfähigkeit des Loeffler-Serums bei unseren Untersuchungen nicht hinter der des Tellurnährbodens zurückgeblieben ist. Bei der Aus-

saat des verdächtigen Rachenmaterials nach 3-stündiger Anreicherung auf Loeffler-Serum lieferte letzteres Nährmedium etwas mehr positive Resultate als die Tellurplatte; bei der direkten Aussaat auf Tellurplatte war das Prozentverhältnis umgekehrt.

Die Angabe Conradi und Trochs, daß die Tellurplatte eine grobsinnliche Feststellung einzelner Diphtheriekolonien ermöglicht, trifft für eine Reihe von Fällen unbedingt zu. In manchen Fällen liegen aber die Dinge nicht so einfach, was seine Ursache darin hat, daß, wie weiter oben schon ausgeführt, außer den Diphtheriebacillen auch andere Bakterien auf dem Tellurnährboden schwarz gefärbte Kolonien bilden können, daß nicht selten die Begleitbakterien auf der Loeffler-Platte mehr angereichert werden als Diphtheriebacillen, und daß infolgedessen auf der Tellurplatte ein dichter Rasen von Bakterien vorgefunden wird, in dem vereinzelte Diphtheriekolonien sich wohl befinden können, die aber nicht immer, auch wenn man sehen gelernt hat, mit Sicherheit zu erkennen sind, und schließlich darin, daß die Diphtheriebacillen nicht immer bereits nach 20-stündigem Wachstum in schwarzen Kolonien wachsen, sondern bisweilen alsdann auch graue Kolonien bilden. Zugabegeben muß werden, daß in einzelnen Fällen die Untersuchung der Tellurplatte wesentlich erleichtert ist, und zwar dann, wenn es sich um negative Fälle handelt, bei denen auf der Tellurplatte nach Anreicherung auf Loeffler-Serum nur wenige unverdächtige Kolonien angegangen sind.

Bei der direkten Aussaat auf Tellurplatten fallen die zuvor angeführten Vorteile vielfach fort, weil alsdann auf der Tellurplatte nicht viel weniger Kolonien angetroffen werden als auf dem Loeffler-Serum, also hier wie dort ein Rasen von Bakterien zu finden ist. Eine grauschwarze Färbung des Rasens ist nicht beweisend, da sie auch durch andersartige, gleichfalls grauschwarz bis schwarz wachsende Bakterien bedingt sein kann. Wir sind demnach auch bei der Tellurplatte häufig darauf angewiesen, von verschiedenen Stellen ohne besondere Wahl Proben für die mikroskopische Untersuchung zu entnehmen. Störend empfanden auch wir bei unseren Untersuchungen, daß zuweilen manche Bacillenarten bei Wachstum auf Tellurnährboden Körnchen in ihrer Leibessubstanz zeigen, die bei der Neisserschen Doppelfärbung das Suchen nach Diphtheriebacillen nicht erleichtern.

Die vorstehenden Ausführungen berechtigen uns zu dem Schluß, die Leistungsfähigkeit des altbewährten Loeffler-Serums der des von Conradi und Troch angegebenen Tellurnährbodens zum mindesten gleichzustellen. Vorteile, die der neue Nährboden bietet, werden durch ebenso viele Nachteile aufgewogen. Es liegt demnach kein Grund vor, nunmehr den Tellurnährboden an Stelle des Loeffler-Serums zum bakteriologischen Diphtheriebacillennachweis zu verwenden, zumal dieses billiger und erheblich leichter herzustellen ist.

Ebenfalls eine Modifikation des Loeffler-Serums stellt der von v. Drigalski und Bierast zum Nachweis von Diphtheriebacillen empfohlene Nährboden dar. Die genannten Autoren suchten das Loefflersche Nachweisverfahren dadurch zu verbessern, daß sie dem Nährboden Galle in bestimmtem Verhältnis zusetzten.

Die Herstellung des v. Drigalski-Bierastschen Nährbodens erfolgt in der Weise, daß 600 ccm Rinderserum mit 174 ccm Traubenzuckerbouillon und 26 ccm Galle gemischt und in Platten ausgegossen

werden. Erstarrt werden die Platten im Serumerstarrungsapparate in derselben Weise wie bei Loeffler. Die Modifikation hat also den großen Vorteil, daß die Herstellung des Nährbodens in der bisher üblichen, einfachen Weise erfolgen kann.

Als Vorzüge dieses Nährbodens geben v. Drigalski und Bierast an, daß auf der Galleplatte die Auffindung der diphtherieverdächtigen Kolonien erheblich erleichtert erschien gegenüber dem Loefflerschen Originalnährboden, und daß die Zahl der gewachsenen Diphtheriekolonien in einem Teil der Fälle deutlich zahlreicher war als auf dem Loeffler-Serum. Das Ergebnis ihrer vergleichenden Untersuchungen war folgendes: Von 53 positiven Fällen fanden sie 36 auf beiden Nährböden positiv und außerdem 17 nur auf der Galleplatte; sie hatten also auf letzterem Nährboden ein um 47 Proz. besseres Resultat erzielt. Auf Veranlassung von v. Drigalski und Bierast wurde ihr Nachweisverfahren im Untersuchungsamte des Hygienischen Instituts Halle einer Nachprüfung unterzogen, wobei die Galleplatte 21 Proz. mehr positive Resultate lieferte als das Loeffler-Serum. Diese recht bemerkenswerten Erfolge der Galleplatte veranlaßten uns ebenfalls zu einer Nachprüfung.

Inzwischen ist aus der der Leitung von Prof. Conradi unterstellten bakteriologischen Abteilung in Dresden von E. Voelckel eine Arbeit erschienen, die sich mit demselben Gegenstande beschäftigt. E. Voelckel verglich die Leistungsfähigkeit der Galleplatte mit der des Originalnährbodens und der der Conradi-Trochsen Tellurplatte, wobei zu bemerken ist, daß bei letzterem Nährboden nicht das Anreicherungsverfahren, sondern der direkte Ausstrich geübt wurde. Von 150 zur Untersuchung gelangten Abstrichen waren positiv 35 auf der Galleplatte, 39 auf der Original-Loeffler-Platte und 43 auf dem Tellurnährboden. Die Galleplatte hatte demnach die schlechtesten Resultate geliefert. E. Voelckel gibt an, daß die Diphtheriekolonien auf der Galleplatte nie zahlreicher waren als auf der Loeffler- oder Tellurplatte, und daß die Begleitbakterien auf der Galleplatte ebenso gut gediehen wie auf der Loeffler-Platte. Er vermag deshalb in dem Züchtungsverfahren nach v. Drigalski und Bierast weder eine Erleichterung noch eine Verschärfung der bakteriologischen Diphtheriediagnose zu erblicken.

Für die Verwendung der Galleplatte tritt Seligmann ein, der in der Conradi-Trochsen Tellurplatte keinen praktischen Vorteil erblicken kann. Bei seinen Untersuchungen erzielte er bei 111 Fällen 30mal ein positives Resultat auf Galleplatte und Loeffler-Serum, 9mal nur auf Galleplatte und 3mal nur auf Loeffler-Serum.

Ueber unsere eigenen Untersuchungen ist folgendes zu berichten. Die Herstellung des Nährbodens erfolgte genau nach den Angaben von v. Drigalski und Bierast. Der fertige Nährboden unterscheidet sich in seinem Aussehen kaum und in seiner Konsistenz nicht von dem Original-Loeffler-Nährboden. Die Ausstriche erfolgten zunächst auf Loeffler-Serum und alsdann auf der Galleplatte in der üblichen Weise. Wir haben also dem neuen Nährboden dieselben Chancen gewährt wie v. Drigalski und Bierast und wie Seligmann<sup>1)</sup>. Ueber das Ergebnis unserer Untersuchungen gibt nachstehende Uebersicht Auskunft.

Zahl der untersuchten Fälle	155
Positiv auf beiden Nährböden	59
Positiv nur auf Loeffler-Serum	4
Positiv nur auf Galleplatte	4
Gesamtzahl der positiven Fälle	67

1) Anm. bei der Korrektur. Um festzustellen, ob bei Verwendung von zwei Platten für einen Rachenabstrich die zweite Platte gegenüber der zuerst beimpften sich etwa wesentlich im Nachteile befindet, haben wir inzwischen Kontrolluntersuchungen in der Weise ausgeführt, daß wir 105 Rachenabstriche auf je 2 Loeffler-Serumplatten ausstrichen. Das Ergebnis war folgendes: Positiv waren auf beiden Platten 30 Abstriche, nur auf der ersten Platte 5 und nur auf der zweiten 4 Abstriche. Aus diesem Versuche geht hervor, daß die zweite Platte gegenüber der ersten sich nicht wesentlich im Nachteile befindet.

Aus dieser Uebersicht geht hervor, daß das Loeffler-Serum ebensoviel positive Resultate ergeben hat wie die Galleplatte. Die Zahl der Versager war auf beiden Nährmedien gleich groß. Was nun die Zahl der auf den beiden Nährböden gefundenen Diphtheriekolonien anlangt, so haben wir den Eindruck gehabt, daß im allgemeinen ihre Zahl übereinstimmt; in einzelnen Fällen fanden sich wohl mehr Diphtheriebacillen auf der Galleplatte, in anderen Fällen wiederum traf dies für die Loeffler-Platte zu. Das Wachstum der verschiedenen Begleitbakterien auf den beiden Nährböden zeigte keine nennenswerte Differenz. Im allgemeinen glichen die auf den beiden Nährböden angelegten Ausstriche einander nach entsprechender Bebrütung.

Unser Urteil über den v. Drigalski-Bierastschen Galle-serumnährboden möchten wir auf Grund unserer Versuchsergebnisse dahin abgeben, daß die Galleplatte das Loeffler-Serum an Leistungsfähigkeit nicht übertrifft.

Schon weiter oben hatten wir ausgeführt, daß Heymann bei der Nachprüfung des Tellurnährbodens zu dem Ergebnis gekommen war, daß die wenigen Fälle, die sich durch die Tellurplatte mehr aufdecken lassen als durch Loeffler-Serum, in der Weise gerettet werden können, daß man zunächst einen Ausstrich auf Loeffler-Serum anlegt, der nach 6 Stunden untersucht wird; fällt die Untersuchung negativ aus, so wird von der 1. Platte eine 2. Loeffler-Platte angelegt. Auf diese Weise wurden die wenigen Versager, welche die Loeffler-Platte gegenüber der Tellurplatte hat, ausgeschaltet.

Wir haben dieses Verfahren gleichfalls geprüft, haben aber, wie wir gleich bemerken müssen, keine günstigen Erfahrungen mit ihm gemacht. Nach unseren Beobachtungen war das Wachstum der Begleitbakterien auf der 2. Loeffler-Platte sehr oft ein außerordentlich üppiges, so daß das Auffinden etwa vorhandener Diphtheriebacillen dadurch wesentlich erschwert wurde. Die Zahl der positiven Fälle war auf der 2. Platte wesentlich geringer als auf der 1. Platte, wie aus nachstehender Uebersicht hervorgeht.

Zahl der untersuchten Fälle	104
Positiv auf beiden Platten	12
Positiv nur auf der 1. Platte	9
Positiv nur auf der 2. Platte	1
Gesamtzahl der positiven Fälle	22

Die geringe Zahl der positiven Fälle darf nicht wundernehmen, da nur solche Fälle auf einer 2. Platte zum Ausstrich gelangten, die nach 6-stündiger Bebrütung auf der 1. Platte ein negatives Resultat ergeben hatten. Durch die Verwendung der 2. Platte wurde nur ein Fall mehr aufgedeckt. Wir haben den Eindruck gewonnen, daß die auf diesem Wege zu erzielende Verbesserung der Diphtheriediagnose nicht dem Aufwande an Nährboden und Arbeitszeit entspricht.

### Zusammenfassung.

1) Die Gimsche Modifikation der M. Neisserschen Doppelfärbung ist besonders geeignet für die Besichtigung von Originalpräparaten aus frischen Rachenfällen.

2) Weder der Tellurnährboden nach Conradi und Troch, noch die Galleplatte nach v. Drigalski und Bierast übertreffen an

Leistungsfähigkeit den Originalnährboden nach Loeffler. Es liegt daher kein Grund vor, das bisher geübte Kulturverfahren zu ändern.

3) Das von Heymann vorgeschlagene Anreicherungsverfahren lieferte uns keine günstigen Resultate.

#### Literaturverzeichnis.

- Conradi u. Troch, München. med. Wochenschr. 1912. p. 1652.  
 Dold, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1911. p. 98.\*  
 v. Drigalski u. Bierast, Dtsche med. Wochenschr. 1913.  
 Gins, H. A., Dtsche med. Wochenschr. 1913. p. 502.  
 Heymann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. p. 99.\*  
 Knoll, Zeitschr. f. Medizinalbeamten. 1913. p. 493.  
 Klunker, München. med. Wochenschr. 1913. p. 1025.  
 Schürmann u. Hajós, Dtsche med. Wochenschr. 1913. p. 786.  
 Seligmann, Hyg. Rundsch. 1913. p. 978.  
 Trautmann u. Gähtgens, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. p. 61.\*  
 Ungermann, Hyg. Rundsch. 1913. p. 957.  
 Voelckel, E., München. med. Wochenschr. 1913. p. 1883.  
 Wagner, Gerhard, München. med. Wochenschr. 1913. p. 457.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber neuere Diphtherie-Nährböden.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie in Straßburg. Direktor:  
 Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth.]

Von Alfred Hanau.

Nach der Entdeckung des Diphtheriebacillus war die Einführung des Loefflerschen Serums ein großer Fortschritt für die praktische Verwertung dieser Entdeckung. Das Loeffler-Serum kann als ein Spezialnährboden für die Diphtheriebacillen bezeichnet werden, da er ihr Wachstum gegenüber dem der Begleitbakterien fördert. Jahrzehntlang hat er im Dienste der Bekämpfung der Diphtherie gute Dienste geleistet. Immerhin weist er noch gewisse Mängel auf. Obwohl er einen Elektivnährboden für die Diphtheriebacillen darstellt, besteht die Möglichkeit, daß spärlich vorhandene Diphtheriebacillen durch andere Bakterien so überwuchert werden, daß ihr Auffinden erschwert oder unmöglich wird. Außerdem ist die Unterscheidung zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen nicht immer möglich. Deshalb wurden in letzter Zeit mehrfach Versuche gemacht, diese Fehler möglichst zu beseitigen.

Rankin<sup>1)</sup> suchte 1911 die Diphtheriediagnose durch Benutzung eines „Potassium-sulphocyanide Neutral red Glucose Serum“ zu erleichtern. Dieser neue Nährboden wird hergestellt, indem man zu einer Mischung von 3 Teilen frischen Hammelblutserums und einem Teil Bouillon oder Wasser 1 Proz. Traubenzucker, 1 Proz. Kaliumsulfocyanid und 1 Proz. einer 1-proz. wässerigen Neutralrotlösung zusetzt, welches Gemisch dann in üblicher Weise fraktioniert, sterilisiert und zum Erstarren gebracht wird.

Der spezielle Zweck dieses Nährbodens besteht darin, daß durch den Gehalt an Kaliumsulfocyanid die Begleitbakterien in ihrer Ent-

1) Rankin, A Medium for Bacillus diphtheriae. (Journ. of Hyg. 1911. No. 2.)



wicklung gehemmt werden sollen. Das Neutralrot hat die Aufgabe, durch Farbumschlag infolge Säurebildung die Anwesenheit von Diphtheriebacillen anzuzeigen. Der fertige Nährboden ist orangefarben und wird bei Anwesenheit von säurebildenden Mikroorganismen rosa bis rot. Als solche kommen nach Rankins Angaben in erster Linie Diphtheriebacillen in Betracht; einige wenige ebenfalls säureproduzierende Bakterien könne man durch die Art des Rot unterscheiden, so daß eine mikroskopische Untersuchung entbehrt werden könne; besonders aber spräche Ausbleiben der Rötung unbedingt für das Fehlen von Diphtheriebacillen.

### **Eigene Untersuchungen <sup>1)</sup>.**

Ich habe diesen Nährboden in 67 Fällen geprüft. Als Material dienten mir Rachen- und Nasenabstriche von Diphtherieverdächtigen. Es wurde in sämtlichen Fällen zur Kontrolle auch Loeffler-Serum beimpft.

Das Resultat war in 65 Fällen auf beiden Nährböden dasselbe, und zwar 16mal positiv; in je einem Falle wuchsen Diphtheriebacillen nur auf Loeffler- bzw. Rankin-Serum. Das Bakterienwachstum auf Rankin-Serum war im allgemeinen geringer als auf Loeffler-Serum, gelegentlich auch das der Diphtheriebacillen. Jedoch war ein besseres Gedeihen der Diphtheriebacillen auf Rankin-Serum gegenüber dem auf Loeffler-Serum häufiger zu konstatieren als das umgekehrte Verhalten. Bezüglich der Färbung des Nährbodens konnte folgendes festgestellt werden: Bei Anwesenheit von Diphtheriebacillen war der Nährboden 10mal deutlich, 2mal nur an einzelnen Stellen, 5mal nicht gerötet; bei Abwesenheit von Diphtheriebacillen fand sich deutliche Rötung 14mal, partielle 11mal und gar keine Rötung 25mal. Außer Diphtheriebacillen verursachten manche Kokkenarten, besonders Staphylokokken, häufig Rötung; doch sahen dann die Kolonien meist auch auf Rankin-Serum saftiger aus, das Rot war glänzender, während das Rot der Diphtheriebacillen meist matter war. Die Unterschiede sind jedoch nicht so groß und nicht so konstant, daß sich eine mikroskopische Untersuchung erübrigte. Bei Anwesenheit von Pseudodiphtheriebacillen war das Serum nicht oder nur schwach gerötet, so daß hierin ein Moment erblickt werden kann, das differentialdiagnostisch zur Unterstützung herangezogen werden könnte. Zu der Färbung ist noch zu bemerken, daß durch das Diffundieren der Säure der Nährboden oft auch an Stellen gerötet erscheint, wo sich nur nicht säurebildende Bakterien befinden, so daß das Auffinden der Diphtheriebacillen in vielen Fällen direkt erschwert wird.

Es geht also aus meinen Versuchen hervor, daß die Diphtheriebacillen häufiger Rötung als andere Bakterien erzeugen; die Unterschiede sind aber zu gering und zu wenig konstant, als daß auf das Mikroskop verzichtet werden könnte. Da auch die Begleitbakterien meist nicht wesentlich in ihrer Entwicklung gehemmt werden und durch die Einführung des Neutralrotes die charakteristischen Merkmale der einzelnen Kolonien verwischt werden, mitunter das Auffinden der Diphtheriebacillen sogar erschwert ist, so bedeutet der Rankinsche Nährboden meines Erachtens keinen Fortschritt gegenüber dem Loeffler-Serum.

---

<sup>1)</sup> Das Ergebnis wurde bereits auf dem Mikrobiologentag in Berlin (1913, 31. März bis 2. April) von Dold mitgeteilt.

Conradi und Troch<sup>1)</sup> suchen die Beseitigung der Mängel des Loeffler-Serums dadurch zu erreichen, daß sie neben einer Loeffler-Platte noch eine Tellurplatte verwenden. Diese Tellurplatte, die ebenfalls einen festen Nährboden darstellt, wird aus Rinderserum und künstlicher Bouillon hergestellt, die außer Fleischextrakt, Kochsalz und Pepton noch 0,6 Proz. Calcium bimalicum und 1 Proz. Traubenzucker enthält. Zu je 100 ccm eines aus 3 Teilen Rinderserums und 1 Teil dieser Bouillon zusammengesetzten Gemisches werden dann noch 2 ccm einer 1-proz. Lösung von Kalium tellurosum hinzugesetzt.

Conradi und Troch verfahren nun in der Weise, daß sie mit dem zu untersuchenden Material zuerst eine Loeffler-Platte beimpfen, auf der die Diphtheriebacillen sich anreichern sollen. Nach 3-stündigem Bebrüten bei 35° C wird ein Teil des auf der Loeffler-Platte gewachsenen Materials auf 1 oder 2 Tellurplatten überimpft, und diese werden nach weiteren 20 Stunden auf Diphtheriebacillen untersucht, falls auf der Loeffler-Platte nach im ganzen 11-stündigem Wachstum keine Diphtheriebacillen gefunden worden sind. Zweck der Tellurplatte ist es, vermöge ihres Gehaltes an Kalium tellurosum und Calcium bimalicum die störenden Begleitbakterien in ihrem Wachstum zu hemmen. Ferner erscheinen die Diphtheriekolonien durch reduziertes Tellur tiefschwarz, während die anderen Mikroorganismen, da sie schwächer reduzierend wirken, ein graues bis grauschwarzes Aussehen haben.

Conradi und Troch haben in 200 diphtherieverdächtigen Proben von Rachen- und Nasenabstrichen 121mal Diphtheriebacillen gefunden, davon 114mal auf Tellur-, 59mal auf Loeffler-Platten. Sie fanden also in 7 Fällen Diphtheriebacillen nur auf Loeffler-, in 52 Fällen sowohl auf Loeffler- als Tellurplatten; in 62 Fällen fanden sich Diphtheriebacillen nur auf Tellurplatten.

Wagner<sup>2)</sup> berichtet über 114 Fälle, die er in der angegebenen Weise untersucht hat. Davon gaben 108mal Loeffler- und Tellurplatte übereinstimmende Resultate, darunter 39 positive; von den übrigen 6 Fällen waren 4 nur auf Loeffler-Serum, 2 nur auf Tellurplatten positiv. In 72 weiteren Fällen bestrich Wagner mit demselben Tupfer eine Loeffler- sowie eine Tellurplatte. Von diesen hatten gleiche Ergebnisse 61 Fälle, darunter 27 positive. In den übrigen wurden 3mal nur auf Loeffler-, 6mal nur auf Tellurserum Diphtheriebacillen gefunden.

Nach Wagner ermöglicht die Conradi-Trochsche Tellurplatte leichtere Auffindbarkeit der Diphtheriekolonien, ohne dem geübten Untersucher wesentlich mehr positive Befunde zu liefern. Im übrigen hält er die Anreicherungs-methode für umständlich, zeitraubend und kostspielig, und empfiehlt die ausschließliche Verwendung der Tellurplatte.

Neisser<sup>3)</sup> hält die Schwarzfärbung der Diphtheriekolonien für ein durchaus konstantes Merkmal gegenüber sehr vielen anderen Bakterien und auch gegenüber vielen Diphtheroiden, von welchen aber auch manche eine gewisse Schwarzfärbung hervorriefen.

Schürmann und Hajos<sup>3)</sup> prüften das Conradi-Trochsche Anreicherungsverfahren in 108 Fällen nach und hatten negative Resultate auf Loeffler- und Tellurplatten in 72 Fällen, positive Resultate auf

1) Conradi u. Troch, Ein Verfahren zum Nachweis der Diphtheriebacillen. (München. med. Wochenschr. 1912. No. 30.)

2) Wagner, Erfahrungen mit der Conradi-Trochschen Tellurplatte zum Diphtherienachweis. (München. med. Wochenschr. 1913. No. 9.)

3) 7. Tagung der freien Vereinig. f. Mikrobiol. in Berlin, 31. März bis 2. April 1913.

beiden Platten in 28 und positive Resultate nur auf Tellurplatte in 8 Fällen. Außerdem beimpften sie in 133 Fällen Loeffler- und Tellurplatten gleichzeitig und fanden dabei 33mal auf Loeffler- und Tellurplatte, 15mal nur auf Tellurplatte, 85mal überhaupt keine Diphtheriebacillen.

Sie kommen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Resultat, daß der Zusatz von Tellur die Diphtheriediagnose erleichtert, und daß bei Verwendung von Tellurplatten häufiger Diphtheriebacillen gefunden werden als auf Loeffler-Serum. Sie empfehlen direkte Aussaat auf die Tellurplatte, die bessere Resultate gebe, als die Anreicherung auf der Loeffler-Platte, kombiniert mit dem Tellurplattenverfahren. Ferner stellten sie fest, daß auch in flüssigen Tellurnährböden sich eine stärkere Anreicherung der Diphtheriebacillen erzielen ließe als in gewöhnlicher Bouillon. Jedoch enthalten sie sich eines definitiven Urteils.

Trautmann und Gaehtgens<sup>2)</sup> sehen die Vorzüge der Tellurplatte im Farbenunterschied, im Knoblauchgeruch, der nur bei Reinkulturen von Wert sei. Als Mängel führen sie unter anderem an: die Umständlichkeit des Herstellungsverfahrens, die verschiedenen Farbenabstufungen auch virulenter Diphtheriekulturen (grau bis schwarz), ferner das Wachsen anderer Bakterien (Staphylokokken, Sarcine, Luftkeime) in schwarzen Kolonien, ferner das teilweise Atypischwerden der Formen. Sie halten die Tellurplatte bis zu einem gewissen Grade für wertvoll für bestimmte Sonderuntersuchungen, namentlich für solche mit Reinkulturen, möchten aber von ihrer Verwendung für die tägliche Diphtherieuntersuchung absehen.

Baerthlein<sup>1)</sup> konstatiert, daß gewisse Formen der Diphtheriebacillen in zarten hellbraunen Kolonien wachsen, wodurch er den Wert der Tellurplatte nicht für wesentlich verringert erachtet, da dessen Hauptvorteil in seiner hohen Elektivität zu suchen sei.

Heimann<sup>1)</sup> änderte bei einem Teil seiner Untersuchungen die Anordnung in der Art, daß er von der primären Loeffler-Platte sowohl auf Tellur- als auf Loeffler-Serum überimpfte. Danach kommt er zu dem Resultat, die Tellurplatte für entbehrlich halten zu können.

Klunker<sup>2)</sup> hatte in 140 nach der Conradi-Trochschen Methode untersuchten Fällen 133mal auf Loeffler- und Tellurplatte das gleiche Resultat, darunter 32mal ein positives. 2mal wuchsen nur auf Loeffler-, 5mal nur auf dem Tellur-Serum Diphtheriebacillen. Klunker kommt zu dem Schluß, daß das neue Verfahren nicht hinter der Loeffler-Methode zurücksteht, aber auch keine Verbesserung bedeutet; der Wert des Tellurserums liege weniger in seiner praktischen Verwendbarkeit für den Diphtherienachweis als vielmehr darin, daß er möglicherweise über manche biochemische Eigenschaften auch anderer Bakterien Aufschluß gäbe.

### Eigene Untersuchungen<sup>3)</sup>.

Ich habe das Tellurserum in 94 Fällen zur Untersuchung von diphtherieverdächtigen Rachen- und Nasenabstrichen benutzt. 52mal wurde das von Conradi und Troch angegebene Verfahren befolgt, 42mal wurden Tellurplatten ebenso wie die Loeffler-Platten sofort mit dem

1) 7. Tagung der freien Vereinig. f. Mikrobiol. in Berlin, 31. März bis 2. April 1913.

2) Klunker, Ueber die Verwendbarkeit der Conradi-Trochschen Tellurplatte zum Diphtherienachweis. (München. med. Wochenschr. 1913. No. 19.)

3) Das Ergebnis wurde bereits auf dem Mikrobiologentag in Berlin (1913, 31. März bis 2. April) von Dold mitgeteilt.

zu untersuchenden Material beimpft (ohne Anreicherungsverfahren). Die mikroskopischen Untersuchungen fanden 20—24 Stunden nach dem ersten Ausstreichen statt, bei den Loeffler- und Tellurplatten gleichzeitig. Es wurden dadurch für Loeffler- und Tellurserum gleiche Verhältnisse geschaffen.

Von den ersteren 52 Fällen ergaben Loeffler- und Tellurplatten 48mal dasselbe Resultat, davon 9mal ein positives. Von den übrigen 4 Fällen fielen einer nur auf Tellurserum, 3 nur auf Loeffler-Serum positiv aus. In diesen 4 Fällen fanden sich die Diphtheriebacillen nur in sehr geringer Anzahl. Von den 42 direkt beimpften Tellurplatten ergaben 39 dasselbe Resultat wie die Kontroll-Loeffler-Platten; 9mal fand ich auf beiden Diphtheriebacillen. In 3 Fällen wurden nur auf Loeffler-Platten Diphtheriebacillen gefunden.

Die Diphtheriebacillen wuchsen meist in schwarzen bis grauschwarzen Kolonien; doch kamen auch vereinzelt positive Fälle vor, bei denen trotz zahlreich vorhandener Diphtheriebacillen die Kolonien nur dunkelgrau oder braun waren. Andererseits wuchsen auch andere Bakterien häufig in schwarzgrauen Kolonien, besonders war dies beim *Staphylococcus pyogenes aureus* der Fall; dessen Kolonien waren oft viel üppiger als die der Diphtheriebacillen, und man konnte daraus schon mitunter die Diagnose makroskopisch stellen. Dagegen fand ich nie Pseudodiphtheriebacillen, die in schwarzen oder sehr dunkelgrauen Kolonien gewachsen waren, falls nicht etwa Mischkolonien vorlagen.

Auf den primär beimpften Tellurplatten fanden sich im allgemeinen viel mehr reine Kolonien vor, als auf den sekundär beimpften; dies gilt nicht nur für die Diphtheriebacillen, sondern auch für andere Bakterien. Auf den sekundär beimpften waren einzelne isolierte Kolonien viel seltener zu finden. Dies findet seine Erklärung wohl darin, daß an den Tupfern, die mit dem Sekret des Kranken infiziert sind, die lebensfähigen Bakterien in geringerer Anzahl haften als an den Tupfern, mit denen man von Loeffler-Serum auf Tellurserum überimpft, so daß in dem einen Falle die einzelnen Bakterien schwerer isoliert wachsen können, als in dem anderen.

Diese Resultate sprechen also, zahlenmäßig betrachtet, weder für eine Ueberlegenheit der Tellurplatte, noch für eine solche des Conrad-Trochsen Verfahrens über die alte Methode; die kleine Differenz zuungunsten der Tellurplatte mag auf Zufälligkeiten beruhen. Meine Erfahrungen zeigten allerdings, daß die Tellurplatte, direkt beimpft, einen Vorzug hat, nämlich den, daß die Diphtheriebacillen in manchen Fällen leichter zu finden sind. Ferner spricht dann, wenn die mikroskopische Untersuchung nicht klar ergibt, ob Diphtherie- oder Pseudodiphtheriebacillen vorliegen, schwarzes Wachstum gegen die Diagnose Pseudodiphtherie.

*Nachdruck verboten.*

## Ein Trockenpräparat (Ragitserum) zur Darstellung des Loeffler-Serums.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Dr. Senckenbergischen Pathologischen Institutes in Frankfurt a. M.]

Von Prof. Dr. E. Marx.

Für den kulturellen Nachweis von Diphtheriebacillen ist und bleibt das Loeffler-Serum der wichtigste Nährboden, der bisher durch nichts aus seiner herrschenden Stellung verdrängt werden konnte. Wenn nun auch die Herstellung des Loeffler-Serums die denkbar einfachste ist, so macht dieser Nährboden, wie ich aus eigenen Erfahrungen weiß, kleinen Laboratorien, in denen Diphtherieuntersuchungen nicht ein tägliches Vorkommnis sind, doch oft nicht geringe Schwierigkeit und Verlegenheit, da eben die Grundlage des Nährbodens, das Serum, nicht zur Hand ist.

Ich versuchte daher, ein Präparat darzustellen, welches diese Laboratorien vom flüssigen Serum unabhängig macht. Dank den Bemühungen der Firma E. Merck gelangte ich vor allem in den Besitz eines für meine Zwecke brauchbaren Albumins, da alle Handelspräparate sich als völlig unbrauchbar erwiesen. Es gelang mir so, eine staubfeine Mischung darzustellen, die aus Albumin, Maggi-Bouillon und Zucker besteht, und mit deren Hilfe es in einer gleich anzugebenden Weise ohne weiteres gelingt, sich in kürzester Frist einen Nährboden zu bereiten, der mangels des originären Loeffler-Serums für dieses bei der Untersuchung von diphtherieverdächtigem Material eintreten kann. In Anlehnung an die von mir herausgebrachten Ragitnährböden erhielt das Präparat den Namen Ragitserum.

Die Darstellung des Nährbodens ist nun folgende: 13,3 g Ragitserum werden in einen großen Mörser geschüttet. Man mißt sich dann 100 ccm Leitungswasser ab. Nachdem durch Umrühren mit dem Pistill das Serum im Mörser etwas verstrichen ist, setzt man einige Tropfen Wasser zu und fängt an, das in der Mitte des Mörsers liegen gebliebene Pulver mit Wasser anzureiben. Sobald die Masse zu dick geworden ist, wird wieder etwas Wasser hinzugegeben. Immer im Kreis reibend, so wie in der Küche Mehl und Milch beim Kuchenbacken angerieben wird, fallen immer neue Teilchen des Serums mit in den Brei, der nach Bedarf immer wieder durch Wasserzusatz verdünnt wird. Irgendwelche Kraftanstrengung ist zu vermeiden, da man dann nur Brocken bekommt, die an der Mörserwand ankleben und erst durch weitere Kraftanwendung loszulösen sind. Ist alles verrührt, was in kürzester Zeit vor sich geht, so fügt man dieser Verreibung von 13,3 g Ragitserum und 100 ccm Wasser 5 ccm Glyzerin hinzu. Das Gemisch kommt nun in Schälchen oder Reagensgläschen zunächst zum Erstarren. Kleinere Laboratorien verfügen in der Regel auch nicht über einen besonderen Schrank zum Erstarren und Sterilisieren des Loeffler-Serums, so daß man dann in anderer Weise vorgehen muß. Man bringt Wasser in einem Topf zum Kochen und stellt über den Topf eine durchlochte Platte oder ein Drahtnetz und läßt die Dämpfe den Nährboden umspülen. Er erstarrt dann in wenigen Minuten. Ist dies geschehen, kommen die erstarrten Röhr-

chen (ich pflege nur mit Röhrchen zu arbeiten) oder Platten für  $\frac{1}{4}$  Stunde in den Dampftopf.

Die Diphtheriebacillen wachsen auf diesem Nährboden meist zarter als auf dem Original-Loeffler-Serum, außerdem meist völlig farblos, so daß man oft erst bei Berührung der Oberfläche eines Röhrchens merkt, daß dieses mit einem dichten Bakterienrasen bedeckt ist. Im übrigen entspricht ihre Form und vor allem auch die durch die Neisser-Färbung nachweisbare Körnung vollkommen dem, was wir beim Wachstum von Diphtheriebacillen auf Loeffler-Serum kennen. Von mir zugänglichen Kulturen von Pseudodiphtheriebacillen wurden nie Körnchen gebildet.

Sollte dieser Nährboden aber tatsächlich an Stelle des Loeffler-Serums unter gegebenen Umständen treten können, so mußte vor allem bewiesen werden, daß er ebenso wie dieser bei Impfung mit einem Bakteriengemisch elektiv die Diphtheriebacillen zum Wachsen bringt. Um dies festzustellen, bat ich seinerzeit Herrn Dr. R. Koch, damals Assistent an der Medizinischen Klinik des städtischen Krankenhauses, mir von allen Fällen, von denen Rachenabstriche zwecks Untersuchung auf Diphtheriebacillen ins Hygienische Institut geschickt wurden, gleichfalls Abstriche zu übersenden. Ich hatte so eine absolut sichere und ganz objektive Kontrolle meiner Untersuchungsergebnisse in den Untersuchungsergebnissen des Hygienischen Institutes. Nachdem ich 100 Fälle, sowohl frische wie Nachuntersuchungen, untersucht hatte, brach ich ab, da diese 100 Fälle die absolute Gleichwertigkeit des Ragitserums mit dem originären Loeffler-Serum für die praktische Diphtherieuntersuchung ergeben hatten.

Herr Prof. Neumann-Gießen hatte dann die Liebenswürdigkeit, einige Monate in der Gießener Untersuchungsstelle das Ragitserum nebenher verwenden zu lassen. Er war so freundlich, mir folgendes darüber zu schreiben:

„Wir sahen, daß auf dem Ragitserum das Wachstum in den meisten Fällen etwas spärlicher und langsamer war. Der Nährboden trocknet scheinbar auch etwas schneller aus.

Die Körnchenfärbung ist wohl die gleiche wie auf dem Loeffler-Serum. Wenn bei Pseudodiphtherie Körnchen gefunden wurden, so waren sie auf dem Loeffler-Serum auch da. Ich könnte nicht sagen, daß ich hierin dem einen oder anderen Nährboden den Vorzug geben würde.

Die auf Loeffler-Serum vielfach so üppigen Formen haben wir auf dem Ragit meist vermißt.

Hat man kein Loeffler-Serum zur Hand, so ist Ihr Nährboden gewiß eine sehr nützliche Bereicherung unseres Nährbodenmaterials.“

Zum Schlusse möchte ich bemerken, daß sich dieser Nährboden natürlich auch für andere Bakterien eignet, die Albumin für ihr Wachstum bedürfen, nur ist dann oft der Glyzerinzusatz überflüssig oder zu hoch, so z. B. für Tuberkelbacillen, die bei 4 Proz. besser zu gedeihen scheinen, doch habe ich weitere systematische Untersuchungen darüber nicht angestellt.

Das Ragitserum wird, wie die übrigen Ragitpräparate, von der Firma E. Merck in Darmstadt in den Handel gebracht.

*Nachdruck verboten.*

## Was leisten die von W. Pfeiler und W. Lentz angegebenen Nährböden in der Praxis?

[Aus dem Kaiserl. Bakteriologischen Institut für Deutsch-Südwestafrika  
Gamams bei Windhuk (Direktor: Dr. H. Sieber).]

Von Dr. **Fritz Ruppert**, Assistenten am Institute.

In Heft 1. Bd. 68 des Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. beschreiben Pfeiler u. Lentz die Herstellung eines Nährbodens ohne Zusatz von Fleischwasser oder Fleischbrühe, der den Verfassern berufen erscheint, „als vollwertiger Ersatz für die bisher bei der Züchtung der saprophytischen und pathogenen Mikroorganismen pflanzlicher Natur benutzten festen Nährböden zu dienen“.

Die hauptsächlichsten Vorteile des neuen Nährbodens sollen in der einfachen Art der Herstellung und der großen Billigkeit liegen. (1 Liter soll 25 Pf. kosten, während die gleiche Menge bei Verwendung von Pferdefleisch 60 Pf. und bei Gebrauch von Rindfleisch gar 1,10 M. kosten würde.)

Für unsere Kolonie fällt diese Preisrechnung nicht so sehr ins Gewicht, denn die Salze, die zur Herstellung des künstlichen Nährbodens notwendig sind, müssen hier wegen der Fracht erheblich teurer bezahlt werden, als zu Hause. Andererseits ist das Rindfleisch hier wesentlich billiger als in Deutschland, 1 Pfund kostet etwa 40—50 Pf. Der größte Vorteil schien in der bequemen Herstellung des künstlichen Nährbodens zu bestehen und nicht zuletzt in seiner immer gleichmäßigen Zusammensetzung, denn nur bei ganz gleicher Ernährung ist ein gleichmäßiges und gleichartiges Wachstum der Bakterien gewährleistet.

Angesichts dieser Vorteile wurde der künstliche Nährboden am hiesigen Institut eingeführt. Die Erfolge waren jedoch nicht so, wie man sie erwarten mußte. Zum Teil kam ich zu den gleichen Resultaten wie Messerschmidt (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. H. 1/2), zum Teil bildete der künstliche Agar ein gutes Nährmedium für einzelne Bakterien, so daß er dem Fleischagar vorzuziehen war. Der benutzte Fleischagar wurde folgendermaßen hergestellt: 500 g Rindfleisch wurden mit 1000 ccm Wasser ausgezogen, dem Auszug wurden dann 30 g Agar, 5 g Kochsalz und 10 g Pepton Witte zugesetzt.

Was das Wachstum der Typhusbacillen betrifft, so stimme ich mit Messerschmidt darin überein, daß sich der Pfeiler-Lentzsche Nährboden als Kultivierungsmittel sehr schlecht eignet. Die beiden Typhusstämmen „Windhuk“ und „Swakopmund“ wuchsen trotz 8-tägigem Umzüchten auf künstlichem Agar so spärlich, daß die Rückkehr zum Fleischagar notwendig wurde.

Der Milzbrandstamm wuchs auf dem künstlichen Agar mindestens ebenso üppig als auf Fleischnährboden, was ja auch von Pfeiler-Lentz und von Messerschmidt angegeben wird. Der Stamm verlor jedoch sein typisches Wachstum. Mit künstlichem Agar zu Platten gegossen, zeigte er z. B. keine Haarlockenform mehr, und in Ausstrichen aus der Kultur fehlten die langen charakteristischen Fäden. Diese ihn kennzeichnenden Merkmale bekam er allerdings — auf Fleischagar weitergezüchtet — bald wieder zurück. Es ist nicht der Zweck dieser

Arbeit, auf diese Mutationerscheinungen näher einzugehen, zumal Pfeiler und Lentz in ihrer Arbeit erwähnen, daß auch sie außerordentlich interessante Einzelheiten beobachteten, über die sie später noch berichten wollen.

Der *Bacillus mallei* wuchs auf beiden Agararten gleich gut, verlor jedoch auf dem Salznährboden seine schleimige, fadenziehende Beschaffenheit und zeigte im Ausstrichpräparat dickere, gewissermaßen gequollene Bakterienleiber, als wir sie sonst im Ausstrich zu sehen gewöhnt sind und als sie die Kontrollausstriche aus Fleischagar zeigten. Auf Fleischagar zurückgebracht, wurde die Form und Gestalt der Bakterien wieder kleiner, die schleimige und fadenziehende Beschaffenheit der Kultur kehrte jedoch sehr langsam und erst allmählich zurück.

Eine Parallelerscheinung beobachtete ich bei den Kokken des Maltafiebers. Sie wuchsen äußerst üppig auf dem künstlichen Agar, weit besser als auf Fleischagar. Im Ausstrichpräparat waren sie jedoch mindestens doppelt so groß, als Maltafiebertokokken aus einem gewöhnlichen Fleischagarröhrchen. Gerade für Maltafiebertokokken scheint sich der Pfeiler-Lentz'sche Nährboden gut zu eignen. Der *Micrococcus melitensis* verhielt sich zu den beiden Nährböden meiner Ansicht nach umgekehrt wie der *Typhusbacillus*; ich verwandte deshalb zur Züchtung von Maltafiebertokokken den Pfeiler-Lentz'schen Nährboden ruhig weiter, während er für die anderen Bakterien schnell wieder abgeschafft wurde.

Den Beobachtungen Messerschmidts über das Wachstum der Farbbakterien auf künstlichem Agar muß ich ebenfalls zustimmen. *Staphylococcus pyog. aureus* und *Bacillus pyocyaneus* verloren um so mehr an ihrer Fähigkeit, Farbstoff zu bilden, je länger sie auf dem Salzagar von Pfeiler-Lentz gezüchtet wurden.

Zur Uebersicht über die Brauchbarkeit des künstlichen wie des natürlichen Nährmediums (wie ich den mit Fleisch hergestellten Nährboden nennen will) diene folgende Tabelle:

	Beim Umzüchten auf	
	künstlichem Nährmedium	natürlichem Nährmedium
<i>Bac. typhi</i> (Windhuk)	stets spärlich	gut
<i>Bac. typhi</i> (S'mund)	dgl.	"
<i>Bac. anthracis</i>	gut, aber nicht typisch	"
<i>Bac. mallei</i>	dgl.	"
<i>Staph. pyog. aureus</i>	Farbstoffbildung zurückgehend	"
<i>Bac. pyocyaneus</i>	dgl.	"
<i>Micrococcus melitensis</i>	gut, Kokken vergrößert	spärlich
<i>Bac. rhusiopath. suis</i>	gut	gut
<i>Bac. suisepiticus</i>	"	"
<i>Bac. plurisepticus</i>	"	"
<i>Bac. avisepticus</i>	"	"
<i>Bac. typhi murium</i>	schwach	"
<i>Bac. diphtheriae</i>	gut	"
<i>Bact. coli</i>	"	"

Auf Drigalski- und Endo-Agar, nach der Methode von Pfeiler und Lentz hergestellt, fand ich entsprechende Wachstumsverhältnisse wie auf künstlichem Schrägagar.

Auf Grund der Ergebnisse der Züchtung der verschiedenen Bakterien auf künstlichem Nähragar nach Pfeiler-Lentz und der Resultate



tate des Wachstums auf dem herkömmlichen Fleischagar mußte, trotz der von Pfeiler und Lentz hervorgehobenen verlockenden Eigenschaften des künstlichen Nährmediums, im hiesigen Institut von seiner weiteren Verwendung abgesehen werden.

Zum Schlusse möchte ich nicht versäumen, Herrn Direktor Dr. Sieber für seinen Rat bei der Arbeit verbindlichst zu danken.

*Nachdruck verboten.*

## Eine neue Sicherheitsgaslampe.

[Aus den Werkstätten der Firma Paul Altmann.]

Von Dr. phil. M. Paucke.

Mit 2 Figuren.

Zur Beheizung der Brutschränke, Thermostate und vieler anderer Apparate, welche Tag und Nacht einer Erwärmung auf eine gleichmäßige Temperatur bedürfen, verwendet man allgemein eine sogenannte

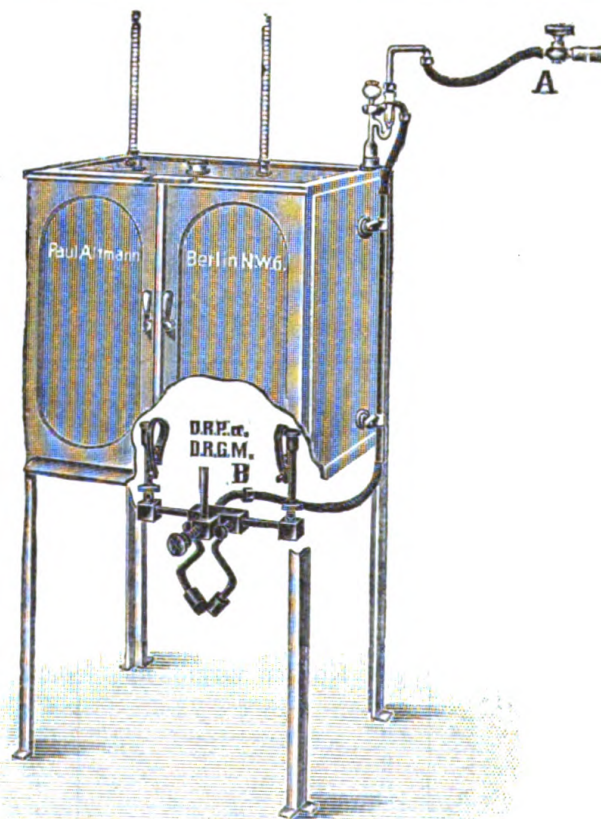


Fig. 1.

Kochsche Sicherheitsgaslampe in Verbindung mit einem Thermoregulator. Diese Sicherheitsgaslampe soll einen gewissen Schutz gegen Feuers- und Explosionsgefahr dadurch bieten, daß sie die Gaszuführung

selbsttätig abschließt, wenn durch Zug oder irgendeinen anderen Umstand die Flamme verlöscht. Wie die nebenstehende Abbildung zeigt, hat das Gas vom eigentlichen Auslaß über den Thermoregulator hinweg bis zur Lampe einen weiten Weg zu machen ( $A-B$ ). Diese ganze Strecke von  $A-B$  wird nun von der Lampe nicht unter Schutz genommen, d. h. wenn eine Undichtigkeit in dieser Leitung entsteht oder der Thermoregulator zerbricht, so kann trotz Verlöschens der Lampe das Gas frei in den Raum ausströmen und zu Feuer und Explosionen Anlaß geben.

Unsere neue Sicherheitsgaslampe ist nun so konstruiert, daß sie direkt mit dem Gasauslaß verbunden werden muß. Hierdurch wird erreicht, daß die gefährdete Strecke nur eine sehr kurze ist; wie nebenstehende Abbildung zeigt von  $C-D$ . Erst nachdem das Gas die Gaskammer der Lampe passiert hat, gelangt es zum Thermoregulator und von diesem zurück zur Lampe. Die vorgenannte Gaskammer ist nun so eingerichtet, daß das Gas nicht mehr zum Brenner gelangt, wenn der Thermoregulator zerbricht oder die Gasleitung zu diesem an irgendeiner Stelle undicht wird. Hierdurch wird wiederum bedingt, daß die Lampe verlöscht und direkt die Gaszuführung bei  $C, D$  verschließt. Ein weiteres Ausströmen des Gases wird somit absolut sicher verhindert. Einen besonderen Vorteil bietet die Lampe noch dadurch, daß der Thermoregulator und die Lampe fix und fertig an den Brutschrank montiert werden können, so daß nach dem Aufstellen nur die Verbindung vom Gashahn zur Lampe auszuführen ist.

Die neue Sicherheitslampe kann auch ohne Schwierigkeiten an bereits vorhandene Brutapparate etc. angebracht werden <sup>1)</sup>.

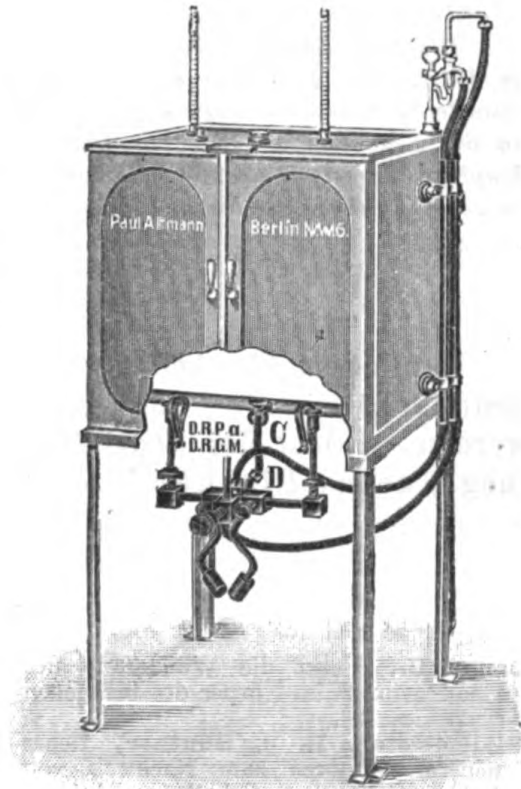


Fig. 2.

1) Die neue Sicherheitslampe ist zum Patent angemeldet und kann durch die Firma Paul Altmann, Berlin NW. 6, Luisenstr. 47, bezogen werden.

### Corrigendum

to Notes on four Trematode Parasites of Marine Fishes (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913. H. 7) by G. A. MacCallum, M.D., New York.

On p. 411 and 412 the name Podocotyle is used in error for Pedocotyle morone, nov. gen. nov. sp.

Podocotyle is a generic name already in use for a quite different type of trematode worm of which there are several species.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---



---

**Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.**

---

### Inhalt.

**Cano, U.**, Ueber die Wanderung des Cholera vibrios im Körper des befallenen Tieres, p. 124.

**Gildemeister, E. u. Günther**, Ueber neuere Verfahren zum Nachweis von Diphtheriebacillen und ihre praktische Bedeutung, p. 237.

**Hanau, Alfred**, Ueber neuere Diphtherie-Nährböden, p. 245.

**Marx, E.**, Ein Trockenpräparat (Ragitserserum) zur Darstellung des Loeffler-Serums, p. 250.

**Müller, Reiner**, Fischsterben bei gleichzeitiger Vorticellenwucherung auf den Daphnien des Gewässers, p. 156.

**Neufeld, F.**, Bemerkungen zur Frage der Typenumwandlung von Tuberkelbacillen, p. 120.

**Paucke, M.**, Eine neue Sicherheitsgaslampe, p. 254.

**Pollak, Richard**, Sarcina tetragena als Erreger einer Pneumonie, p. 147.

**Regnér, Gustaf u. Stenström, Olof**, Weitere Versuche mit von Behrings Bovovaccin. II., p. 180.

**Ruppert, Fritz**, Was leisten die von W. Pfeiler und W. Lentz angegebenen Nährböden in der Praxis? p. 252.

**Seligmann, Erich**, Ueber Diphtheriebacillen, p. 127.

**Trotzky, Ilia**, Die Größe der Typhusbacillen, unter Anwendung der Kollektivmaßlehre bestimmt, p. 113.

**Ubbens, Herman**, Die Bereitung von Serum gegen die Schweinepest, p. 215.

**Yokogawa, S.**, Ueber einen neuen Parasiten Metagonimus Yokogawai, der die Forellenart Plecoglossus altivelis (Temminck) zum Zwischenwirt hat. Bildung einer neuen Gattung, p. 158.

# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 72. Heft 4/5.

Ausgegeben am 31. Dezember 1913.

*Nachdruck verboten.*

## Nachruf.

Von Prof. Dr. Dunbar, Hamburg.

Herr Professor Dr. Heino Trautmann, Abteilungsvorsteher am Hygienischen Institut in Hamburg, ist seiner Tätigkeit nach mehrwöchiger Krankheit entrissen worden. Trautmann ist vor 10 Jahren zu uns gekommen als einer von den vielen wissenschaftlichen Hilfskräften, die damals von allen Seiten herbeiströmten, als unser Institut begonnen hatte, sich aus kleinsten Anfängen heraus mit beispielloser Schnelligkeit zu entwickeln und auszudehnen. Es galt, die Auswahl zu treffen, von der es abhing, ob das noch selten gelöste Problem sich verwirklichen ließe, ein großes wissenschaftliches Institut, an dem die Vertreter verschiedener Fakultäten zusammen arbeiten mußten, so aufzubauen und zusammenzuschweißen, daß es als festgefügt, einheitlicher Organismus dastehen konnte, in dem alle Mitarbeiter von gegenseitigem Vertrauen beseelt, von gegenseitiger Achtung erfüllt waren. Das schien eine Aufgabe, an deren Lösbarkeit man um jene Zeit oft hätte verzweifeln mögen. Eines war klar, sie ließ sich nur verwirklichen, wenn es gelang, Männer von guter Erziehung, vornehmer Gesinnung, mit ausgesprochenem Pflichtgefühl und zuverlässigem Charakter zu gewinnen und so zu verteilen, daß sie innerhalb eines abgegrenzten Arbeitsgebietes für die Aufrechterhaltung geordneter Verhältnisse sorgen konnten. Trautmann wurde trotz seines jugendlichen Alters schon bald als einer von denen erkannt, die würdig waren, als solche Stützpunkte zu gelten. Ihm haben wir es mit in erster Linie zu danken, daß unser großes Institut mit seinen etwa 50 wissenschaftlichen Mitarbeitern in bezug auf den dort herrschenden kollegialen Sinn eine beneidenswerte, fast einzig dastehende Entwicklung genommen hat. Er hatte das Glück gehabt, schon von frühester Kindheit auf eine Erziehung zu genießen, die auf Wahrheit, Pflichttreue, generöse Denkungsart und ideale Lebensauffassung hinzielte. Man braucht den prächtigen Eltern und Geschwistern nur einmal ins Auge geblickt und ihnen die Hand gedrückt zu haben, um zu verstehen, wie Trautmann schon in verhältnismäßig recht jungem Alter als ein Mann von gereiftem Charakter gelten konnte, dem man sich nach jeder Richtung rückhaltlos anvertrauen durfte. Schon nach 3-jähriger Tätigkeit wurde er zum Vorstand der bakteriologischen Abteilung des Instituts ernannt. Damit fiel ihm nicht allein eine sehr umfangreiche Tätigkeit zu, sondern auch die Verantwortung für ganz besonders schwierige und bedeutungsvolle Untersuchungen. Um jene Zeit war die verhängnisvolle Choleraepidemie von 1892 noch nicht ganz in Vergessenheit geraten. Alljährlich meldeten sich Aerzte, die vorgekommene Brechdurchfälle nach ihrem klinischen Verlauf mit Sicherheit als Cholera ansprechen zu müssen glaubten. Auch vom Auslande wurden Erkrankungsfälle nach Hamburg eingeschleppt, denen wegen ihrer Herkunft aus verseuchten Ländern große Bedeutung beizumessen war. In allen solchen Fällen galt es, die Diagnose innerhalb der denkbar kürzesten Zeit sicherzustellen, ehe

noch die Oeffentlichkeit sich damit beschäftigen und unbegründeten Gerüchten Vorschub geleistet werden konnte. Bei diesen Untersuchungen ist uns das sichere zuverlässige Urteil Trautmanns von unschätzbarem Wert gewesen. Um jene Zeit war man auch auf die Bedeutung der Ratten für die Ausbreitung der Pest aufmerksam geworden, die damals ihre Wanderung über den ganzen Erdball begonnen hatte. Zahlreiche Schiffe liefen in Hamburg ein, die aus pestverseuchten Gegenden kamen. Es galt festzustellen, ob sie eine Gefahr für Hamburg und das Deutsche Reich bedeuteten. Tausende von Rattenkadavern mußten alljährlich seziiert und untersucht werden. Diese liefen zu allen Tageszeiten ein, und es kam darauf an, die Frage, ob die Ratten den Pestkeim in sich trügen, so schnell zu entscheiden, daß jede Verkehrsstörung möglichst vermieden, gleichzeitig aber so sicher, daß keine Einschleppungsgefahr heraufbeschworen wurde. Die ganzen Jahre hindurch konnte man Trautmann häufig zu später Nachtzeit noch in seinen Laboratorien bei der Arbeit antreffen, wo er unter Aufgabe jeder Rücksicht auf seine eigene Person bemüht war, die vorliegenden wichtigen Aufgaben zum beschleunigten Abschluß zu bringen.

Der eiserne Wille und die unermüdliche Energie, mit denen er sich solchen aufreibenden Aufgaben widmete, wurden bei Trautmann unterstützt durch eine zähe Natur. Er hatte aber schon in seiner Kindheit an Gelenkrheumatismus gelitten und hatte einen Herzklappenfehler, der zwar kompensiert war, dem jedoch jede Ueberanstrengung verhängnisvoll werden konnte. Hierauf nahm Trautmann nicht immer genügend Rücksicht. Er mutete sich zuviel zu. Die oft wiederholte Mahnung, er möchte die aufreibenderen Aufgaben jüngeren Kräften überlassen, blieben fruchtlos. Im September dieses Jahres war es Trautmann nach 2-jährigen konsequent durchgeführten umfassenden Untersuchungen zum erstenmal gelungen, in unserem Hafengebiet entwicklungsfähige Typhusbakterien in großer Verbreitung nachzuweisen. Von diesem, ihm ganz unerwarteten und unerklärbaren Befund ließ er sich dermaßen hinreißen, daß er ohne jede Rücksicht auf eine schmerzhaftes Anschwellung im linken Bein wiederholt selbst hinausfuhr, um die Proben zu entnehmen, und seine Arbeitszeit weit über das übliche Maß hinaus ausdehnte, um diese epidemiologisch wichtige Frage zur Entscheidung zu bringen. Wiederholt mußte er während dieser Zeit das Bett hüten, aber immer wieder drängte es ihn nach seinem Laboratorium. Als er sich endlich überreden ließ, einen Arzt zu Rate zu ziehen, war es zu spät. Eine Endocarditis mit Streptokokkenbefund hatte zunächst zu einer Embolie im linken Bein geführt, jetzt trat eine Embolie im Gehirn auf, die zu vorübergehenden Bewußtseinstörungen führte. Am Abend des 4. November konstatierte Herr Kollege Schottmüller, der sich dem Kranken mit größter Hingabe widmete, eine Embolie in der Lunge, wodurch der Zustand hoffnungslos geworden war. In der darauffolgenden Nacht ist Trautmann dem tückischen Leiden erlegen.

Die Stellung, welche Trautmann während der letzt vergangenen 7 Jahre eingenommen hat, brachte es mit sich, daß er mit der Aerzteschaft Hamburgs in täglichem vielseitigen Verkehr stand. Er hatte alljährlich Tausende von Fällen zu untersuchen, wo es sich um Diphtherieverdacht, um Verdacht auf Genickstarre, Typhus, Paratyphus, Tuberkulose und andere Infektionskrankheiten handelte, Krankheiten, bei denen der einzelne Arzt dem einzelnen Fall oft große Bedeutung beilegt, wo er gelegentlich ungeduldig wird und schwer erfüllbare Anforderungen



stellt. Den ganzen hiermit zusammenhängenden Verkehr hat Trautmann persönlich erledigt, und zwar mit einer Geduld, einer Liebenswürdigkeit und einem Interesse für jeden einzelnen Fall, die schließlich die allgemeine Anerkennung finden mußten. Jede sich bietende Gelegenheit haben die Hamburger Aerzte denn auch benutzt, Herrn Professor Trautmann für seine nicht nur prompten, sondern auch nach jeder Richtung hin zuverlässigen und umfassenden Bemühungen zu danken.

Es darf geradezu als erstaunlich angesehen werden, wie Trautmann trotz aller solchen laufenden Ansprüche, die Tag für Tag an ihn gestellt wurden, es fertig gebracht hat, eine so umfassende wissenschaftliche Tätigkeit zu entfalten, wie er es getan hat. Seine zahlreichen Veröffentlichungen über Paratyphus, Fleischvergiftungen, Pest, Genickstarre, Diphtherie, Wohnungs- und Bücherdesinfektion, Milchsterilisierung, Reinigung von Schulzimmern usw. zeugen von seinem vielseitigen, nie ermüdenden wissenschaftlichen Interesse. Sie haben ihm weit über die Grenzen Hamburgs und des Deutschen Reiches hinaus den Namen eines unabhängigen zuverlässigen Forschers erworben.

Diesem wissenschaftlichen Eifer lag jedes Strebertum fern. Seine selbständige, stolze Natur schloß solches vollständig aus. Einen ehrenvollen Ruf in eine mehr nach außen hin zur Geltung kommende Stellung hat Trautmann abgelehnt, weil er glaubte, sich seinen wissenschaftlichen Studien hier in Hamburg besser und uneingeschränkter widmen zu können.

Von der tiefgehendsten Trauer sind diejenigen erfüllt, die im täglichen Verkehr mit ihm standen, unter seiner Leitung und von ihm angeregt arbeiten konnten, sich seines Rates und seiner Fürsorge erfreuten. Mit unbegrenzter Hochachtung und unbegrenztem Vertrauen blickten sie zu ihm auf. Durch sein männliches konsequentes Eintreten für seine Ueberzeugung ist er vielen vorbildlich geworden, namentlich aber auch dadurch, daß er trotz scharfer Verfechtung seines Standpunktes sowohl im täglichen und beruflichen Verkehr wie auch in wissenschaftlichen Auseinandersetzungen niemals persönlich und verletzend wurde. Trautmanns hochentwickeltes Gerechtigkeitsgefühl duldet es niemals, daß in seiner Gegenwart über Dritte nachteilig gesprochen wurde. In seiner Umgebung konnten Neid und Mißgunst nicht gedeihen. Lauterkeit und unbedingte Zuverlässigkeit des Charakters mit einem auf das Große und Ideale gerichteten Sinn waren die Signatur seiner von Grund aus vornehmen Persönlichkeit.

Erst vor wenigen Jahren hat das Hygienische Institut in Herrn Professor Dr. Farnsteiner einen Mitarbeiter und Forscher von gleich seltenen Vorzügen durch frühzeitigen Tod verloren. Gleich ihm werden wir auch Herrn Professor Dr. Trautmann als einem unserer Besten ein treues und dankbares Andenken stets bewahren.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Säurebildung der Staphylokokken aus Kohlenhydraten und hochwertigen Alkoholen. Staphylokokkenmutation auf Brechweinsteinagar.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. B. Fischer).]

Von Marinestabsarzt Dr. Otto Engeland in Kiel.

Mit 1 Textfigur.

Staphylokokken finden sich nicht nur bei Eiterungen, sie sind auch sehr häufig auf Haut und Schleimhäuten, auf den Haaren, Kleidern, in der Luft und auf Gegenständen zu finden, mit denen der Mensch in Berührung kommt. Da es von großer praktischer Bedeutung ist, ob und wie viele dieser Staphylokokken für eine Infektion in Frage kommen, wurde frühzeitig eifrig versucht, Verfahren zu finden, die eine Unterscheidung der pathogenen von den nicht-pathogenen saprophytischen Stämmen ermöglichen sollten.

Die Farbstoffbildung — Aureus, Albus, Citreus — erlaubt keinen Schluß auf die Pathogenität, da einerseits Stämme gleicher Färbung oft ganz verschieden pathogen sind, während andererseits zwischen Stämmen verschiedener Färbung weitgehendes übereinstimmendes pathogenes Verhalten besteht. Im Jahre 1894 fand van de Veld das Leukoëidin, von dem er nachwies, daß es nur von pathogenen Staphylokokken gebildet wird; und daß es die Leukocyten zu blasiger Degeneration und zum Kernverlust bringt. Die Ergebnisse van de Veldens wurden von Bail und vor allem von Max Neisser und Wechsberg bestätigt. Als ein weiteres Unterscheidungsmittel wurde von Max Neisser und Wechsberg das Lysin im Filtrat mehrtägiger Bouillonkulturen nachgewiesen. Es ist dies ein Gift, daß bei der bekannten Versuchsanordnung von Max Neisser und Wechsberg gebildet wird und das durch seine blutkörperchenlösende Eigenschaft charakterisiert ist. Sie fanden, daß nur echten pathogenen Staphylokokken die Eigenschaft der Hämolyse zukommt, rein saprophytischen Stämmen aber nicht; daß z. B. die aus Eiterungen gezüchteten Stämme fast durchweg hämolysieren, von den zahlreichen Luftkeimen aber nur wenige die roten Blutkörperchen schädigen und als pathogene auszusprechen sind. Die frühere, umständliche Methode Neissers ist durch Oppenheimer vereinfacht worden, der in Abschwemmungen 24-stündiger Agarkulturen Hämolysin nachwies, das durch seine Inaktivierbarkeit und Neutralisierbarkeit, durch ein spezifisches Antitoxin (Antistaphylolysin) wohlcharakterisiert ist. Die Ergebnisse der Untersuchungen von M. Neisser und Wechsberg haben ihre Bestätigung durch Jos. Koch, Noguchi, Durme und andere Autoren gefunden.

Einen weiteren Schritt in der Erkennung der pathogenen Staphylokokken bedeutete der durch Kille und Otto geführte Nachweis, daß es gelingt, Staphylokokken durch ein spezifisches Immunsérum in typischer Weise zu agglutinieren. Die Autoren erhielten durch intraperitoneale Immunisierung von Kaninchen Immunséra, die pathogene Staphylokokken in Verdünnungen von 1:200 bis 1:1200 agglutinierten, während nicht-pathogene Stämme unbeeinflusst blieben oder höchstens in Verdünnung 1:30 Agglutination zeigten. Vor allem wurden nur die Stämme agglutiniert, die Hämolysin bildeten. Der Befund von Kille und Otto wurde durch eine weitere Arbeit Ottos, ferner durch Untersuchungen von Pröscher, Klopstock und Bockenheimer, Kutscher und Konrich, Veiel, Jos. Koch bestätigt. Nach Kutscher und Konrich und Otto gibt es schwer agglutinable Stämme, die jedoch von einem genügend hochwertigen Serum stets, wenn auch geringer als sonstige pathogene Stämme, agglutiniert werden. Kutscher und Konrich raten, für solche Stämme die Hämolysinbildung zum Vergleich heranzuziehen, da erfahrungsgemäß gesetzmäßige Beziehungen zwischen Agglutination und Hämolyse beständen.

In letzter Zeit hat sich den beiden Verfahren des Pathogenitätsnachweises, Hämolysinbildung nach Neisser und Agglutination, als drittes das Blutagarplattenverfahren hinzugesellt. Als erster sah Kraus im Jahre 1900, daß sich um Staphylokokkenkolonien, die auf mit Blut bestrichenen Agarplatten gewachsen waren, ein heller

Hof bildete. Am meisten kam dann in Aufnahme die Eijkmansche Blutplatte (5 Tropfen sterilen Kaninchenblutes auf eine Agarplatte). Im Jahre 1908 ist Jos. Koch in einer eingehenden Arbeit für die Verwendbarkeit der Blutplatte eingetreten. Sie wird nach Koch in folgender Weise hergestellt: Steril aus der Vena jugularis entnommenes Kaninchenblut wird durch Schütteln in einem sterilen, mit Glasperlen versehenen Glas von Fibrin befreit und zentrifugiert. Das Serum wird abgezogen, die Blutkörperchen zweimal mit steriler Kochsalzlösung gewaschen. Die gewaschenen Blutkörperchen werden in dem auf 55° abgekühlten Agar gleichmäßig verteilt und der Agar sofort zu Platten ausgegossen. Blutplatten mit tiefroter Farbe sind nach Koch zum Nachweis der Hofbildung am geeignetsten. Koch verglich die Hämolyse auf den Blutplatten mit der im Filtrat gebildeten und fand, daß stets bei den Stämmen, die auf Blutplatten Hofbildung zeigten, die Giftbildung auch im Filtrat nachweisbar war. Auch wurden diese Stämme in typischer Weise agglutiniert, während bei Stämmen ohne Hofbildung auch die Agglutination negativ ausfiel. Das Uebereinstimmen der Pathogenität mit der Hofbildung auf Blutagar hat Nöggerath auch bei Verwendung anderer Blutarten, insbesondere des Menschenblutes, gesehen. Er fand wie Koch die Hofbildung parallel gehend der Lysinbildung im Filtrat nach Neisser. Die Blutplatte ist nach Nöggerath recht brauchbar zur Unterscheidung der pathogenen von den nicht-pathogenen Staphylokokken. Die zuweilen auftretende Hofbildung auf Blutplatten, während das Filtrat keine hämolytische Wirkung zeigt, wird von den Autoren als eine Bildung „primärer Staphylolysine“ bezeichnet, die bei anderer Darstellung nicht gebildet bzw. zerstört werden. Die Hofbildung auf Blutagar wird vielfach fälschlich als „Hämolyse“ bezeichnet. Da im Bereiche der rote Farbstoff ganz schwindet, liegt also weniger eine Auflösung als eine Zerstörung des Hämoglobins vor, worauf schon 1907 A. Burk hingewiesen hat.

Um mich über den Gang der Agglutination zu orientieren, habe ich 100 Staphylokokken-Stämme verschiedenster Herkunft in Serumverdünnungen von 100 bis 2000 agglutiniert mit einem Kaninchen Serum, das ich durch gleichzeitige intravenöse Injektion zweier bei 70° abgetöteter pathogener Stämme gewonnen hatte. Die Hälfte je einer mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmten 24-stündigen Agarkultur wurde 2 Stunden bei 70° gehalten. Das Tier erhielt in Abständen von je 5 Tagen eine Einspritzung in die Ohrvene. 5 Tage nach der letzten Einspritzung betrug der Agglutinationstiter für einen Stamm 5000, für den zweiten 3750. Das Ergebnis war, daß die Stämme mit Hofbildung auf Kaninchenblutagar fast durchweg von den Serumverdünnungen 200 bis 2000 agglutiniert wurden, während die Stämme ohne Hofbildung von der schwächsten 100-fachen Serumverdünnung unbeeinflusst blieben.

Blutagar stellte ich nach Jos. Kochs Vorschrift mit Kaninchenblut her; ich habe ihn mit dem im Kieler Institut verwendeten Ziegenblutagar verglichen und keinen Unterschied bei meinen Stämmen finden können. Die Stämme mit Hofbildung auf Kaninchenblutagar hatten die gleiche Eigenschaft auch immer auf Ziegenblutagar, so daß man für Kaninchenblutagar erwiesene wohl auch ohne weiteres auf den letzteren übertragen kann. Die Herstellung des Ziegenblutagars ist kurz folgende: Durch Punktion einer Halsvene der Ziege wird Blut steril entnommen und in einem mit Glasperlen versehenen Glas aufgefangen. Durch 20-minütiges Schütteln mit der Hand wird es vom Fibrin befreit. Vom defibrinierten Blut werden je 1 ccm mit 9 ccm 2-proz. Agars bei 45° gemischt, es wird also ein 10-proz. Blutagar hergestellt. Der Blutagar wird sofort in Schalen gegossen. Dieses „Plattenverfahren“ ist wegen seiner Einfachheit dem Filtratverfahren in großen Betrieben vorzuziehen, wenn es auch diese nicht ganz ersetzen kann, da es das Anstellen der Kontrollen — Inaktivierbarkeit und Neutralisierbarkeit mit spezifischem Antitoxin — nicht erlaubt. Vor allem ist die Verwendung des Ziegenblutagars wegen der leichten Beschaffung größerer Blutmengen für den allgemeinen praktischen Gebrauch empfehlenswert.



Stets zeigten meine hämolysierenden Stämme die strumpfförmige Verflüssigung der Gelatine.

Bei der Scheidung der pathogenen von nicht-pathogenen Staphylokokken kommen also drei Verfahren in Frage: Die Agglutination, der Nachweis des Hämolysins im Filtrat, der Nachweis der Hofbildung auf der Blutplatte.

Ich versuchte nun festzustellen, ob nicht auch das kulturelle Verhalten der Staphylokokken, insbesondere die **Säurebildung aus Kohlenhydraten oder höheren Alkoholen**, geeignet sei, zur Aufstellung von Gruppen, insbesondere zur Trennung der pathogenen von den nicht-pathogenen Stämmen.

Das zu untersuchen lag vor allem deshalb nahe, weil eine solche Differenzierung bei Streptokokken mit mehr oder weniger Erfolg möglich ist. E. Salomon hat die Ergebnisse seiner in dieser Hinsicht angestellten Untersuchungen in folgenden Sätzen zusammengefaßt:

**A. Gruppe der Streptococcus pyogenes:**

1. Streptococcus pyogenes: Säurebildung aus Amylum solubile; dagegen bleibt Glycerin, Mannit und Raffinose unverändert;
2. Aus Blut gezüchtete Stämme: Säurebildung aus Glycerin und Mannit.

**B. Gruppe der Streptococcus mucosus:**

1. Säurebildung aus Glycerin, Arabinose und Mannit; unverändert bleiben Raffinose und Amylum solubile;
2. Greifen nach 24 Stunden keinen, nach 48 Stunden selten einen der Nährböden an, von denen Dextrose anscheinend bevorzugt wird.

**C. Pneumokokken:**

bilden auf Kohlenhydrat-Lackmus-Ascitesagar keine Säure.

Eingehende Untersuchungen über das Wachstum von Staphylokokken auf Kohlenhydraten liegen von Dudgeon vor. Er verwandte, wie aus dem Referat in Bd. 42 des Centralblattes hervorgeht, besonders viel Saccharide, wie Glukose, Xylose, Raffinose, Inulin; daneben Alkohole, wie Mannit, Erythrit und Glycerin; von Glukosiden das Salicin. Die untersuchten Stämme gaben nur in der Minderzahl völlig gleiche Reaktionen. Einigemal reagierten Stämme verschiedener Farbe und Herkunft ganz identisch. Insbesondere ließen Kokken aus akuten Eiterungen sich von Bewohnern der normalen Haut kulturell nicht differenzieren. Doch zeigten im allgemeinen jene pathogenen häufiger Säurebildung als die saprophytischen. Es beweist dies Ergebnis nach Dudgeon die nahe Verwandtschaft der Staphylokokken untereinander. Eine Gruppeneinteilung ist nicht möglich. Näheres war aus dem Referat nicht ersichtlich und die Originalarbeit war nicht zugänglich.

Deshalb habe ich auf Veranlassung des Herrn Prof. Reiner Müller 105 Staphylokokkenstämme hinsichtlich ihres Säurebildungsvermögens aus Kohlenhydraten und hochwertigen Alkoholen untersucht.

Die Stämme entstammten infektiösen Halserkrankungen und wurden von Löffler-Platten gezüchtet, die mit auf Diphtheriebakterien zu untersuchenden Tupfern beimpft waren. Um die Staphylokokkenkolonien aus der Menge der auf einer derartigen Platte gewachsenen Keime herauszufinden, stellte ich sie nach Abschluß der Untersuchung auf Diphtherie nochmals 24 Stunden in den Brutschrank, um ein Größerwerden der Kolonien zu erzielen. Die Platten wurden dann zwei Tage lang bei Zimmerwärme stehen gelassen. Hierdurch tritt die Farbstoffbildung der Kolonien stärker hervor. Es gelingt hierdurch z. B. leicht, die Citreus-Kolonien zu finden, die bei kürzerer Beobachtungszeit übersehen oder mit Sarcinen verwechselt werden, da sie später als die anderen Farbvarietäten Farbstoff zu bilden pflegen. Die Citreus-Stämme bildeten am deutlichsten ihren Farbstoff auf Rinder-serum und auf Kartoffel. Auf anderen Nährböden, z. B. auf Menschen-serumagar, Ascitesagar, Blutagar, Traubenzuckeragar, sowie auf den später erwähnten Kohlenhydrate und hochwertige Alkohole enthaltenden Nährböden geht die Farbstoffbildung viel mangelhafter vor sich, so daß

ein Uebersehen des Citreus auf diesen Nährböden möglich ist. Die Staphylokokken wurden dann in üblicher Weise isoliert und, wenn Reinkultur vorhanden war, auf Schrägagar gebracht, nachdem zuvor durch die Untersuchung einer 24-stündigen Bouillonkultur der Nachweis erbracht war, daß es sich um Staphylokokken und nicht um ihnen ähnlich gefärbte Sarcine handelte. Zur Untersuchung kamen 75 Stämme aller Farbvarietäten, die durch ihr positives Verhalten bei der Agglutination, ihre Hofbildung auf Blutagar und Gelatineverflüssigung als pathogene oder ihnen sehr nahe stehende gekennzeichnet waren. Mit ihnen wurden 30 Stämme verglichen, die nicht agglutiniert wurden, keine Hämolyse bildeten und Gelatine nicht verflüssigten. Unter ihnen waren gleichfalls alle drei Hauptfarbvarietäten vertreten.

Von Kohlenhydraten und hochwertigen Alkoholen kamen in Verwendung: 1) Glycerin, 2) Erythrit, 3) Arabinose, 4) Mannit, 5) Adonit, 6) Dulcit, 7) Rhamnose, 8) Dextrose, 9) Galaktose, 10) Mannose, 11) Lävulose, 12) Maltose, 13) Laktose, 14) Saccharose, 15) Raffinose, 16) Dextrin. Von diesen Stoffen wurde 1 Proz. in 2 proz. Neutralagar gelöst und letzterer dann in Petri-Schalen gegossen. Als Indikator für die Säurebildung diente anfänglich Lackmus, später Chinablaue — 8 bis 10 Tropfen der gesättigten wässerigen Lösung des Farbstoffs auf 100 Agar. Letzterer Farbstoff, der sich ja bekanntlich in der Thyphusdiagnose gut bewährt hat — Grünagarplatten nach Ludwig Bitter — zeigte sich auch bei meinen Untersuchungen dem Lackmus überlegen, da bei ersterem Zweifel hinsichtlich der Reaktion nicht vorkamen, während mit Lackmus es bei schwacher Säurebildung doch oft schwierig war, eine sichere Entscheidung zu treffen. Nachprüfung auf Chinablaunährboden klärte dann immer jeden Zweifel. Die Schalen wurden mit dem Farbstift in kleine Quadrate eingeteilt und jedes kleine Quadrat mit je einem Stamm in der Mitte derart beimpft, daß die Säurediffusion in das Nachbarquadrat angeschlossen war. Die Schalen wurden 72 Stunden bebrütet und täglich nachgesehen.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen, das aus den beigegeführten Tabellen ersichtlich ist, ist folgendes: Im allgemeinen bilden alle Staphylokokken Säure auf Glycerin, Mannit, Dextrose, Galaktose, Mannose, Lävulose, Maltose, Laktose, Saccharose. Unverändert bleiben: Erythrit, Arabinose, Adonit, Dulcit, Rhamnose, Raffinose, Dextrin. Von den 75 Stämmen der Tabelle I, auf der die pathogenen oder ihnen sehr nahe stehenden Stämme zusammengestellt sind, bildete abweichend Stamm 9 auf Erythrit, Arabinose, Dulcit, Rhamnose und Raffinose Säure, auf Lävulose keine Säure. Ferner bildeten Säure Stamm 7 auf Arabinose und Raffinose, Stamm 4 auf Adonit, Stamm 5 auf Raffinose, Stamm 21, 28, 30, 31, 47, 72 auf Arabinose, Stamm 12 und 28 auf Raffinose Säure. Keine Säure bildeten Stamm 3 auf Mannit, Stamm 38 auf Laktose, 45 auf Galaktose, 10 und 75 auf Lävulose. Vom Schema weichen von den nicht-pathogenen ab: Stamm 17, der auf Dulcit, Raffinose und Arabinose, 11, 16, 28, die auf Arabinose Säure produzierten, während diese Eigenschaft Stamm 23 auf Glycerin, Mannit, Laktose, Galaktose, Lävulose, Maltose, 19 auf Glycerin und Maltose, 6 auf Mannit und Lävulose, 3 und 7 auf Maltose, 26, 27 und 30 auf Mannit, 4, 5 und 22 auf Lävulose nicht zeigten. Die Prüfung der Stämme fand zweimal, und zwar im Abstand von etwa 8 Wochen statt; die Stämme, die als schwach säurebildend in der Tabelle kenntlich sind, hatten bei der ersten Untersuchung eine

Tabelle I.  
Staphylokokken mit Hofbildung auf Blutagar.

Nummer	Farbe	Glycerin	Erythrit	Arabinose	Mannit	Adonit	Dulcit	Rhamnose	Dextrose	Galaktose.	Mannose	Lävulose	Maltose	Laktose	Sakcharose	Raffinose	Dextrin
1	Aureus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
2	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
3	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
4	"	■	—	—	■	□	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
5	Albus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	■	—
6	Aureus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
7	"	■	—	■	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	□	—
8	"	■	—	■	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	□	—
9	"	■	□	■	■	—	□	□	■	■	■	—	■	■	■	□	—
10	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	□	—
11	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	□	—
12	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	□	—
13	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
14	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
15	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
16	Albus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
17	Aureus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
18	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
19	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
20	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
21	"	■	—	■	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
22	Albus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
23	Aureus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
24	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
25	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
26	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
27	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
28	"	■	—	■	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	■	—
29	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
30	"	■	—	■	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
31	"	■	—	■	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
32	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
33	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
34	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
35	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
36	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
37	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
38	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
39	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
40	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
41	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
42	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
43	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
44	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
45	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
46	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
47	"	■	—	■	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
48	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
49	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
50	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
51	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
52	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
53	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
54	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—
55	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	—	■	■	■	—	—

Nummer	Farbe	Glycerin	Erythrit	Arabinose	Mannit	Adonit	Dulcit	Rhamnose	Dextrose	Galaktose	Mannose	Lävulose	Maltose	Laktose	Sacharose	Raffinose	Dextrin
56	Citrus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
57	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
58	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
59	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
60	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
61	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
62	Albus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
63	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
64	Aureus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
65	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
66	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
67	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
68	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
69	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
70	Orange	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
71	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
72	Albus	■	■	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
73	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
74	Aureus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
75	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—

Tabelle II.

Staphylokokken ohne Hofbildung auf Blutagar.

No.	Farbe	Glycerin	Erythrit	Arabinose	Mannit	Adonit	Dulcit	Rhamnose	Dextrose	Galaktose	Mannose	Lävulose	Maltose	Laktose	Sacharose	Raffinose	Dextrin
1	Gelb	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
2	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
3	Albus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
4	Gelb	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
5	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
6	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
7	Albus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
8	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
9	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
10	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
11	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
12	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
13	Citrus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
14	Albus	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
15	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
16	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
17	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
18	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
19	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
20	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
21	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
22	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
23	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
24	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
25	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
26	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
27	Gelb	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
28	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
29	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—
30	"	■	—	—	■	—	—	—	■	■	■	■	■	■	■	—	—

stärkere, den übrigen gleiche Säurebildung gezeigt. In den Tabellen bedeutet: ■ normale Säurebildung, □ schwache Säurebildung, — keine Säurebildung.

Das Endergebnis der Untersuchung ist folgendes: Die pathogenen oder ihnen nahestehenden Staphylokokkenstämme zeigen untereinander hinsichtlich der Säurebildung aus Kohlenhydraten und hochwertigen Alkoholen eine erheblich größere Uebereinstimmung, als die nicht-pathogenen Stämme. Zur Differenzierung dieser beiden Gruppen ist das qualitative Säurebildungsverhalten nicht geeignet.

Kurz vor Beendigung der Arbeit habe ich Versuche angestellt, um zu ermitteln, ob sich Unterschiede bezüglich der Menge der gebildeten Säure zwischen pathogenen und nicht-pathogenen Stämmen ermitteln ließen. Ich impfte 5 aus Eiterungen gewonnene Aurei und 3 nicht-pathogene Albi, von denen 2 aus der Luft, einer aus der Mundhöhle stammte, in 1-proz. neutrale Dextrose- und Laktosebouillon und ließ diese 40 Stunden bei 36° C im Brutschrank. Um zu ermitteln, welche Einflüsse die Menge der Bouillon auf die Menge der gebildeten Säure habe, und gleichzeitig zur Kontrolle habe ich Bouillonkulturen zu 10 und 5 ccm angesetzt. Das Resultat ist in Tabelle III veranschaulicht.

Herkunft des Stammes	Tabelle III. Dextrose		Laktose	
	10 ccm	5 ccm	10 ccm	5 ccm
Aureus aus Abszeß	1,1	0,8	1,0	0,8
" " "	1,0	0,7	1,2	0,6
" " "	1,1	0,7	1,1	0,5
" " Furunkel	1,1	1,0	0,5	0,1
" " "	1,1	0,7	1,1	0,7
Albus " Mundhöhle	0,5	0,4	0,4	0,3
" " Luft (14)	0,6	0,4	0,5	0,3
" " " (19)	0,6	0,5	0,5	0,5

Die Untersuchung, die wegen der geringen Zahl der Stämme noch keinen Anspruch nach Verallgemeinerung hat, zeigt, daß die Bestimmung der in der 1-proz. Zuckerbouillon gebildeten Säuremenge vielleicht geeignet ist, als Unterscheidungsmittel der pathogenen von nicht-pathogenen Stämmen herangezogen zu werden, da die pathogenen in der Dextrosebouillon erheblich mehr Säure als die nicht-pathogenen bildeten, während auch ein pathogener Stamm in der Milchzuckerbouillon nur geringe Säuremengen produzierte. Die Titration der Bouillon wurde mit  $\frac{1}{5}$  Normalnatronlauge vorgenommen. Die Zahlen in der Tabelle geben die Menge der zur Neutralisierung zugesetzten Normalnatronlauge in Kubikzentimetern bis zur Erzielung des Umschlags zur alkalischen Reaktion an — Rötung der Lösung, der Phenolphthalein zugesetzt war.

Dann habe ich weitere 16 Staphylokokkenstämme nur auf ihr Säurebildungsvermögen aus Dextrosebouillon untersucht. 10 ccm der Bouillon wurden beimpft und dann wie vorher erwähnt verfahren. Das Resultat ist in Tabelle IV zusammengestellt.

Dies Ergebnis kann nicht verwunderlich sein, da die neueren Forschungen, vor allem die Untersuchungen Baerthleins sowie Altmanns und Blühdorns den Gedanken nahe legen, daß viele apathogene saprophytische Staphylokokkenstämme, ursprünglich von pathogenen Stämmen abstammend, unter Einwirkung von für sie nachteiligen Einflüssen durch Mutation einen Teil ihrer früheren Eigenschaften eingebüßt und sich einer neuen Lebensweise angepaßt haben. Baerthlein sah nach Aussaat aus 4—5 Wochen alten Bouillonröhrchen und 2—3 Monaten alten Agarkulturen neben zahlreichen Kolonien der ursprünglichen Farbvarietät einzelne Kolonien anderer Färbung wachsen, z. B. neben vielen Aureis einige Albi und umgekehrt. Die mutierten Kolonien

Tabelle IV.

Herkunft des Stammes	Farbe	Agglutinations-titer	Hofbildung auf Blutagar	Menge der zum Rotumschlag verbrauchten $\frac{1}{5}$ NaOH
Furunkel	Aureus	2000	+	1,2
Luft	Albus	0	—	0,4
Kleider	"	0	—	0,4
Haut eines Furunkelkranken	Aureus	2000	+	1,2
Kleider	Gelb	0	—	0,6
Rachenabstrich (Mandelentzündung)	Aureus	2000	+	1,1
Kleider	Albus	0	—	0,2
"	"	0	—	0,7
Luft	Aureus	1000	+	1,1
Kleider eines Furunkelkranken	"	1000	+	1,2
Luft	Albus	0	—	0,5
Kleider eines Furunkelkranken	Aureus	2000	+	1,2
Rachenabstrich (Mandelentzündung)	"	1000	+	1,2
Kleider eines Furunkelkranken	"	1000	+	1,2
Luft	"	1000	+	1,0
Luft	Albus	0	—	0,2

zeigten sich in serologischer Hinsicht mit den Ausgangskolonien identisch. Die Untersuchungen von Altmann und Blühdorn ergaben eine „immunisatorische Verwandtschaft“ hämolytischer und ahämolytischer Stämme, was ebenso wie die Untersuchungen Bärthleins darauf schließen läßt, daß die Saprophyten aus den pathogenen durch Mutation hervorgehen.

Ich selbst sah, daß zwei 8 Monate alte Kulturen pathogener stark hofbildender Aureus-Stämme, die in der Zwischenzeit nicht weiter geimpft worden waren, nach dieser Zeit nur weiß wuchsen und ihr Vermögen, Höfe auf der Blutplatte zu bilden, ganz verloren hatten. Aus einer  $4\frac{1}{2}$  Monate alten Kultur eines anfänglich stark hofbildenden pathogenen Aureus-Stammes erhielt ich nebeneinander drei Rassen: 1) einen Aureus mit starker Hofbildung, einem Agglutinationstiter  $\frac{1}{1000}$ , einem Säurebildungsvermögen in 10 ccm Dextrosebouillon = 1,2 ccm  $\frac{1}{5}$  Normal-NaOH entsprechend; 2) einen Aureus mit schwacher Hofbildung, Agglutinationstiter  $\frac{1}{500}$ , Säurebildungsvermögen = 1,1 ccm  $\frac{1}{5}$  Normal-NaOH; 3) einen Albus ohne Hofbildung, Agglutinationstiter  $\frac{1}{200}$ , Säurebildungsvermögen = 0,9 ccm  $\frac{1}{5}$  Normal-NaOH. Ferner machte ich die Beobachtung, daß einzelne Stämme, die anfänglich deutliche Säurebildung zeigten, nach 8 Wochen nur noch geringe Säureproduktion aufwiesen.

Durch Bildung von Tochterkolonien sich kennzeichnende Mutation hat Massini für das *Bacterium coli mutabile* auf milchzuckerhaltigen Nährböden, A. Burk für ein ähnliches Bacterium auf den gleichen Nährböden beschrieben. Reiner Müller hat später die Knopfbildung der Typhusbakterien auf Rhamnoseagar und die des Paratyphus B auf Raffinoseagar gefunden, ein Vorgang, der für die genannten Bakterienstämme nahezu spezifisch ist und die Unterscheidung von ähnlichen Bakterien gestattet; eine neue diagnostische Methode, die von Penfold und anderen bestätigt wurde.

Da die bisher beschriebenen Bakterienmutationen sich zum Teil als neu erworbene Reaktionsfähigkeit auf bestimmte Stoffe erwiesen haben, versuchte ich eine Anzahl anorganischer und organischer Stoffe darauf, ob sie nicht entsprechende Vorgänge bei Staphylokokken auslösten. Sie wurden 2-proz. Agar in verschiedenen Mengen zugefügt und der Nährboden sofort in Petri-Schalen gegossen. Folgende Stoffe habe ich verwandt:

Azur 1, Azur 2, Acidum mallicum, Aethylalkohol, Aspargin, Alphanaphthylamin, Chininum sulfuricum, Chininum hydrochloricum, Digitalin, Fluorescein, Hydracinsulfat, Koffein, Kongorot, Kristallviolett, Kampfer, Methylenblau, Malachitgrün, Nitrosobetanaphthol, taurocholsaures Natrium, Pikrotoxin, Phenolphthalein, Strychnin, Veratrin, Alumen sulfuricum, Argentum nitricum, Arsensulfid, Bleinitrat, salpetersaures Blei, Bariumkarbonat, Chlorbarium, Cuprum sulfuricum, Eisenchlorit, Zincum sulfuricum.

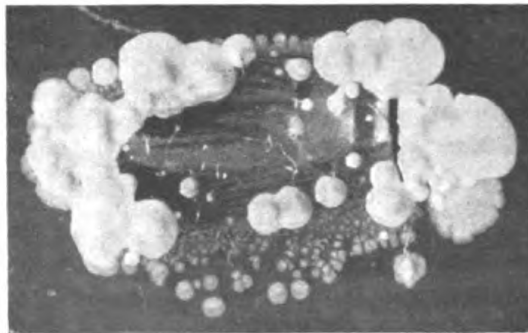
Die mit Staphylokokken beimpften Stämme wurden anfänglich nach dem Vorgange von Reiner Müller 3 Tage bei Brutschrankwärme und dann bei Zimmerwärme gehalten. Später ließ ich die Schalen 1 Woche im Brutschrank stehen und lüftete sie nur täglich. Bei Benutzung der genannten Stoffe fand ich keine Besonderheiten im Kolonienwachstum, abgesehen von den bei vielen eintretenden Entwicklungshemmungen; wohl dagegen mit *Tartarus stibiatus* (Brechweinstein). Ich versetzte je 20 ccm Agar mit 5 ccm einer 1-proz. Tartaruslösung, so daß also der Nährboden 0,2 Proz. Tartarus enthielt. In den ersten Tagen sieht man hier nur ganz kleine, blasse Kolonien, die anfangs nur mit der Lupe erkennbar sind; nach etwa 4–6 Tagen aber bildeten sich recht schnell mehrere zum Teil stark gefärbte große Kolonien, besonders in den Randteilen der Aussaat. Der aus den großen Kolonien gezüchtete Stamm wuchs auf Tartarusnährboden sofort üppig, auch wenn diesem Tartarus in stärkerer Konzentration zugesetzt war, z. B. auf einer Konzentration von 1:25. Nach mehrmaligem Ueberimpfen auf gewöhnlichem Schrägagar hatte er nach 4 Monaten diese Eigenschaft bewahrt und besitzt sie noch bei der Veröffentlichung dieser Arbeit. Ueberimpfung von den kleinen blassen Kolonien auf neuen Brechweinsteinagar ergibt dagegen wieder ein ebenso kümmerliches Wachstum wie bei der ursprünglichen Aussaat. Der Tartarusnährboden ist milchig trübe, was wohl auf Ausfallen des Tartarus stibiatus und auf Eiweißfällung beruht.

Die größeren Kolonien entstehen um so langsamer und bleiben um so kleiner, je größer die Tartarusmenge ist. Auf Blutagar, dem Tartarus stibiatus zugesetzt war, zeigte der erste mutierte Stamm früher und infolge seines üppigeren Wachstums stärkere Hofbildung als andere nicht mutierte Stämme. Auf Tartarusgelatine machte er meist Verflüssigung, während der Ursprungsstamm den Stichkanal entlang überhaupt nicht wuchs. Der mutierte Stamm wurde wie der Mutterstamm von spezifischem Kaninchenserum in einer Konzentration von 1:2000 agglutiniert und auch seine sonstigen kulturellen Eigenschaften zeigten keine Aenderung.

Die gleichen Vorgänge wurden mit 6 Aureus- und 3 Albus-Stämmen erzielt, pathogenen und nicht-pathogenen. Die Citreus-

Stämme zeigten sich dagegen viel empfindlicher. Bei diesen traten oft keine großen Kolonien auf. Sie traten nur auf schwachen Konzentrationen in Erscheinung und waren kleiner. Der aus ihnen gezüchtete Stamm zeigte das zuvor geschilderte Verhalten.

Die beigefügte Abbildung zeigt in 2-facher Größe die beschriebenen Vorgänge bei einer 10 Tage alten Aussaat. Die großen hellen (gold-



Auflagen. in auffallendem Tageslicht; doppelte Vergrößerung. (Phot. Dr. Gerhard Wagner.)

gelben) Kolonien sind die mutierten, an Brechweinstein angepaßten Formen; die kleinen sind die ursprünglichen; die großen entsprechen in ihrem Wesen den „Tochterkolonien“ oder „Knöpfen“, wie sie bei anderen Bakterienmutationen beschrieben sind. Nur sind hier die „Tochterkolonien“ schnell viel größer geworden als die klein bleibenden Mutterkolonien, die von der üppigen Mutationsform ganz überwuchert werden. Ganz entsprechende Vorgänge hat früher Reiner Müller bei dem Jakobsenschen „*Bacterium typhi mutabile*“ festgestellt, wo es sich ebenfalls um einen entwicklungshemmenden Stoff handelte.

### Zusammenstellung.

1) Die Säurebildung aus Kohlenhydraten und hochwertigen Alkoholen eignet sich nicht zur Scheidung der pathogenen und nicht-pathogenen Staphylokokken.

2) Die Bestimmung der gebildeten Säuremenge, besonders in Dextrosebouillon, ist dagegen vielleicht als Unterscheidungsmittel geeignet. Jedoch sind darüber weitere Untersuchungen erforderlich.

3) Ein mutationsartige Anpassung zeigt sich bei Staphylokokken auf Nährböden mit Tartarus stibiatus. Ein mutierter Stamm hatte seine erworbene Widerstandsfähigkeit noch nach 4 Monaten bewahrt.

### Literatur.

- Altmann u. Blühdorn, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. 1910. p. 87.  
 Barthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 54. 1912. p. 178.  
 — Dtsche med. Wochenschr. 1912. No. 31.  
 Bitter, Ludwig, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911. p. 469.  
 Bongartz, Theodor, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. p. 228.  
 Burk, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1907. p. 586.  
 —, Arch. f. Hyg. Bd. 65. 1908. p. 235.  
 Dudgeon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1909. p. 583.  
 van Durme, Hyg. Rundsch. 1903. p. 66.  
 Eijkman, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 19. 1901. p. 841.  
 Jakobsen, K. A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 208.  
 Kraus, Wien. klin. Wochenschr. 1900.  
 Klopstock u. Bockenheimer, Arch. f. klin. Chir. Bd. 72. 1904.  
 Koch, Jos., Arch. f. klin. Chir. Bd. 87. p. 84.  
 —, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. 1908. p. 287.  
 Kolle u. Otto, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 41. 1902. p. 369.  
 Kutscher u. Konrich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 48. 1904. p. 249.  
 Massini, R., Arch. f. Hyg. Bd. 61. 1907. p. 250.  
 Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1908. Beiheft. p. 57.  
 —, Münch. med. Wochenschr. 1909. p. 885.  
 —, Dtsche med. Wochenschr. 1910. p. 2388.  
 —, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. p. 97.  
 —, Zeitschr. f. Abstammungs- u. Vererbungslehre. Bd. 8. 1912. p. 305.  
 Neisser, M., u. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. 1901. p. 299.  
 —, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906. Beih. p. 98.  
 —, Handb. von Kolle u. Wassermann. Jena 1912.  
 Nöggerath, Charitéannalen. Bd. 32.  
 Noguchi, Arch. f. klin. Chir. Bd. 96. 1911.  
 Oppenheimer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911. p. 188.  
 Otto, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 44.  
 Pröschner, Dtsche med. Wochenschr. 1903. p. 195.  
 —, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 437.  
 —, Ibid. Bd. 37. 1904. p. 295.  
 Salomon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 1.  
 Veiel, München. med. Wochenschr. 1904.



*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Kenntnis der säurefesten, im Kote einiger Wirbeltiere anzutreffenden Bacillen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität von Modena  
(Leiter: Prof. Dr. Fr. Sanfelice).]

Von Dr. Michele Bertani.

Auf die Beschreibung der bisher studierten säurefesten Bacillen einzugehen, scheint mir vollständig überflüssig, da in den letzten Arbeiten über diesen Gegenstand, ganz besonders in denen Potets (1) und Lombardo-Pellegrinos (2), fast alle bis jetzt bekannten säurefesten Bacillen besprochen sind.

Die meisten säurefesten Bacillen sind aus der Butter, aus dem Kote einiger Säugetiere und dem Smegma der Hunde isoliert worden. In den vorliegenden Untersuchungen habe ich es mir zur Aufgabe gemacht, die säurefesten Bacillen im Kote der Rinder, Schweine, Pferde, Nagetiere, Insektenfresser, einiger Vögel und mehrerer Amphibien systematisch zu erforschen. Vermittelst geeigneter Vorprüfungen der Kotmassen, d. h. durch Färbung der Ausstrichpräparate nach dem Ziehl-Neelsenschen Verfahren, verschaffte ich mir Gewißheit über das Vorhandensein von Mikroorganismen, die den Säuren zu widerstehen imstande sind. Zur Isolierung der säurefesten Mikroorganismen in Reinkultur schwemmte ich die Kotmassen in physiologischer Lösung auf, verschloß die Röhrchen über der Flamme und brachte sie in den Brutofen bei 37°. 10—15 Tage später prüfte ich in Ausstrichpräparaten mit der Ziehl-Neelsenschen Methode den Inhalt der Röhrchen und stellte Näheres über die Vermehrung der säurefesten Formen fest. Fand ich bei der Prüfung der Präparate, daß die säurefesten Bacillen stark zugenommen hatten, so schritt ich zur Herstellung von Glycerinagarplattenkulturen, untersuchte nach Entwicklung der Kolonien im Brutschrank diese auf ihre Säurefestigkeit und bewirkte schließlich ihre Isolierung.

Mit diesem Verfahren vermochte ich darzutun, daß, während die säurefesten Bacillen sich vermehrten, die gewöhnlichen Mikroorganismen des Kotes immer mehr abnahmen und schließlich fast ganz verschwanden. Daß eine Vermehrung der säurefesten Bacillen vor sich gegangen war, ging daraus hervor, daß in den mit kaum hergestellten Kotalaufschwemmungen angefertigten Präparaten die säurefesten Formen isoliert und spärlich waren, während sich die säurefesten Bacillen im Inhalt der an der Flamme geschlossenen und einige Tage im Brutofen gehaltenen Röhrchen viel zahlreicher und gruppenweise angeordnet vorfanden.

Der erste von mir nachgewiesene säurefeste Bacillus wurde in den Kotmassen der Schweine fast beständig, in denen der Pferde nur hin und wieder angetroffen. Morphologisch steht dieser säurefeste Mikroorganismus zwischen *Streptothrix* und *Pseudodiphtheriebacillus*. Außer den eigentlichen Verzweigungen weist der Bacillus öfters keulenartig angeschwollene Enden auf; nicht selten sind die Bacillensegmente körnig, genau wie bei den Diphtherie- und *Pseudodiphtheriebacillen*.

Die den Säuren gegenüber bestehende Widerstandsfähigkeit läßt sich nur bei einigen Formen nachweisen, die übrigen sind nicht säurefest,

und lassen sich nach dem Ziehl-Neelsenschen Färbeverfahren blau färben. In den jungen Kulturen sehen die säurefesten Bacillen wie mittellange, gleichmäßig oder streckenweise gefärbte Stäbchen aus, mit wirklichen Verzweigungen und hin und wieder auch mit angeschwollenen Enden. Dieselbe Form lassen auch die in Blau gefärbten Bacillen wahrnehmen. In den alten Kulturen zerfallen die säurefesten Bacillen, wobei zuweilen die kürzesten Stücke Kokkenform annehmen. Dieser im hängenden Fleischbrühtropfen beobachtete säurefeste Bacillus besitzt keine Eigenbewegung, ist kein Sporenbildner und nur teilweise grampositiv.

In den Glycerinagarplattenkulturen erscheinen die Oberflächenkolonien größer als die tiefer liegenden; erstere besitzen die Form eines Nadelkopfes, sowie regelmäßige, von Rosarot leicht ins Dunkelorange gelb stechende Ränder, deren Farbe mit der Zeit in ein dem Korallenrot stark ähnelndes, lebhaftes Rot übergeht; letztere dagegen sind scheibenförmig, punktförmig, haben deutliche Ränder und nicht die Farbe der oberflächlichen Kolonien. In den Agarausstrichkulturen erzeugt der Mikroorganismus einen, zuerst orangeroten und dann korallenroten Belag. Dasselbe läßt sich von den Kartoffelausstrichkulturen sagen.

Im Fleischbrühnährboden kommt es zur Entwicklung von Flocken, die sich am Boden absetzen; die Flüssigkeit bleibt hell; an ihrer Oberfläche bildet sich ein Schleier. Bei den Gelatinestichkulturen wächst der Keim an der Oberfläche längs des Einstichkanals und bildet ein rosarotes Pigment; die Gelatine wird nicht erweicht. Bei den Gelatinestrichkulturen kommt es zur Bildung eines schleimigen Belages, der mit der Zeit ein rosenrotes Pigment erhält. An der Oberfläche des erstarrten Rinderserums gleicht die Kultur stark derjenigen, die man in Gelatine erhält.

Dieser säurefeste Bacillus besitzt der Milch gegenüber kein Gerinnungsvermögen.

In die gewöhnlichen Versuchstiere verimpft, erweist er sich als apathogen. Seiner Form nach weicht er von den menschlichen und tierischen Tuberkelbacillen ab.

Der zweite säurefeste Bacillus ist von mir sehr oft im Kote der Rinder und Tauben aufgefunden worden. Wie der vorige, ist er Säuren gegenüber nur teilweise widerstandsfähig, mit dem Unterschiede jedoch, daß beim erstgenannten die säurefesten Formen zahlreich sind, während bei diesem die den Säuren widerstehenden Formen eher spärlich sind und zum kleineren Teil in Form von mittellangen Bacillen, zum größeren Teil dagegen in Form von Kokken auftreten. Verästelte Formen und Keulenformen habe ich niemals beobachtet. Der Gramschen Methode gegenüber widersteht er nur teilweise; es handelt sich um bewegungslose, keine Sporen bildende Bacillen. In den Agarplattenkulturen sind die an der Oberfläche gelegenen Kolonien anders als die in der Tiefe gelegenen; erstere sind rund wie ein Nadelkopf und strohgelb, letztere punktscheibenförmig. In Glycerinagarausstrichkulturen erhält man einen gleichartigen, etwas feuchten, zuerst gelben, dann etwas ins Blaßrote stechenden Belag. In den Kulturen auf Kartoffeln kommt es zu einem blaßroten Belag. An der Oberfläche des erstarrten Rinderserums entsteht ein fleischroter, schleimig aussehender Belag. In Fleischbrühe bildet er Flocken, die sich auf den Boden niederschlagen; an der Oberfläche kommt ein Häutchen zustande. Wird der Bacillus in der Milch gezüchtet,

so bringt er diese zur Gerinnung. Bei den gewöhnlichen Versuchstieren ist er nicht pathogen.

Der dritte säurefeste Bacillus wurde von mir häufig aus den Kotmassen des Rindes und der Taube isoliert. Nur einige Formen sind säurefest. Die den Säuren widerstehenden Formen sind im Verhältnis zu den nicht widerstehenden spärlich. Die säurefesten Bacillen erinnern stark an die Coli-Bacillen; sie sind dick und kurz, und die beiden Durchmesser nur wenig verschieden. Unter den nicht säurefesten Formen finden sich deutlich bacilläre. Zum Unterschied von den vorher beschriebenen ist dieser Bacillus grampositiv, bewegungslos, kein Sporenbildner; in Fleischbrühe entwickelt er sich nicht nur unter gleichartiger Trübung derselben, sondern unter Bildung kleiner Flocken, die sich auf den Boden niederschlagen. In Agarplattenkulturen sind die oberflächlichen Kolonien ausgedehnter, als die tiefer liegenden, und besitzen die Form von Stecknadelköpfen mit regelmäßigen, orangefarbenen Rändern.

Bei den Glycerinagarausstrichkulturen kommt es zur Entwicklung eines orangeroten Belages, der in den alten Kulturen besonders deutlich hervortritt.

In den Ausstrichkulturen auf Kartoffeln zeigt er dieselbe Farbe, wie in Agar. An der Oberfläche des geronnenen Rinderserums erzeugt der Bacillus einen etwas feuchten, blaßroten Belag.

In den gewöhnlichen Versuchstieren ist er nicht pathogen.

Bei den Gelatinestichkulturen findet die Entwicklung an der Oberfläche und längs des Einstichkanals statt. An der Oberfläche kommt es zur Bildung eines blaßroten Pigments. Die Gelatine wird nicht erweicht.

Der erste, von mir erforschte, säurefeste Bacillus unterscheidet sich morphologisch vom ersten Bacillus Lombardo-Pellegrinos (3) dadurch, daß er keulenartige Formen erkennen läßt und auf die gewöhnlichen Versuchstiere keine pathogene Wirkung ausübt.

Der zweite, von mir beschriebene, säurefeste Bacillus ähnelt in verschiedenen Merkmalen dem dritten, von Lombardo-Pellegrino (4) gefundenen Bacillus, unterscheidet sich jedoch von diesem dadurch, daß er keine Keulenformen besitzt, die Gelatine nicht verflüssigt und Milch nicht zur Gerinnung bringt.

Der dritte, von mir aufgefundene, säurefeste Bacillus nähert sich morphologisch dem sechsten, von Lombardo-Pellegrino (5) gefundenen Bacillus, unterscheidet sich von diesem aber dadurch, daß er der Gramschen Färbemethode nicht standhält.

Lombardo-Pellegrino (6) teilt die von ihm gefundenen säurefesten Bacillen in 2 Gruppen ein; in die erste Gruppe bringt er die säurefesten Bacillen, die einen deutlichen Pleomorphismus bei Vorhandensein von Fadenformen aufweisen; zu dieser Gruppe gehören die Bacillen I, II, III, IV, VI; es finden sich darin verästelte und unverästelte Bacillen. Zur zweiten Gruppe gehören vorwiegend die säurefesten Bacillen, die sich morphologisch den Pseudodiphtheriebacillen nähern. Während der erste, von mir beschriebene, säurefeste Keim zur ersten Klasse der von Lombardo-Pellegrino aufgestellten ersten Gruppe gehört, muß für die anderen beiden eine besondere Gruppe geschaffen werden, da sie sich von den Pseudodiphtheriebacillen unterscheiden und der Gruppe der Coli-Bacillen nähern. Sowohl die von mir beschriebenen, wie auch die von Lombardo-Pellegrino aufgefundenen Bacillen können bezüglich ihrer Morphologie und ihrer Entwicklungsweise weder mit dem Bacillus

von Rabinowitsch (7), noch mit 5 von Tobler (8) und auch nicht mit den beiden Grasbacillen Moellers (9) verwechselt werden.

Wenn wir also die Kennzeichen der von mir in den Kotmassen einiger Wirbeltiere gefundenen säurefesten Bacillen zusammenfassen, so läßt sich behaupten, daß, was ihre morphologischen Eigenschaften anbetrifft, sie einen bedeutenden, von Kokkenformen bis zu fadenförmigen, verästelten und keulenförmigen Formen reichenden Pleomorphismus aufweisen. Mit den gewöhnlichen Anilinfarben werden sie schwach gefärbt, einige sind grampositiv, andere gramnegativ, und widerstehen nur zum Teil den Säuren. Alle sind bewegungslos, bilden keine Sporen, erzeugen kein proteolytisches Enzym, entwickeln sich langsam bei einer Temperatur von 15° und kräftig bei 37°. Im allgemeinen sind es farbstoffbildende Kulturen, die dazu hinneigen, ihr Farbstoffbildungsvermögen zu wechseln, und bald mehr, bald weniger stark gefärbt sind, was sehr wahrscheinlich der Zusammensetzung des Nährbodens oder anderen, unseren Forscherblicken noch verhüllt gebliebenen Ursachen zuzuschreiben ist.

Die Kulturbeläge auf Glyzerinagar und Kartoffeln haben, wenn die Kulturen jung sind, ein gleichartiges, etwas feuchtes Aussehen; in alten Kulturen dagegen werden warzenartige Beläge wahrgenommen mit eher trockenen, interstitiellen Zähnungen.

Modena, Juni 1913.

#### Literatur.

- 1) Potet, Etudes sur les bactéries dites „acidophiles“. Paris (Baillière et fils) 1912.
- 2) Lombardo-Pellegrino, Sui bacilli acidoresistenti. (Ann. d'ig. sperim. Vol. 16. 1906. p. 163.)
- 3) —, ibid. p. 166.
- 4) —, ibid. p. 168.
- 5) —, ibid. p. 173—175.
- 6) —, ibid. p. 173—175.
- 7) Rabinowitsch, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Markt-butter. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 26. 1897. p. 90.)
- 8) Tobler, Beiträge zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen usw. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. 1901.)
- 9) Moeller, Ueber die Beziehungen der Tuberkelbacillen zu den anderen säurefesten Bacillen zum Strahlenpilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1901. p. 513; Bericht über den Londoner Tuberkulosekongreß. 1901.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Hefen und Fungi imperfecti in pneumonischen Herden bei Haustieren, und über Trichophytie der Lunge beim Kalbe.

Von Dr. med. vet. Paul Serena, aus Bergün,  
Kanton Graubünden (Schweiz).

Mit 10 Figuren im Text.

Die pneumonischen Herde in der Lunge von Kalb und Schwein sind bakteriologisch vielfach untersucht worden, meist freilich mit dem ganz bestimmten Zweck, in denselben die Gegenwart des Kontagiums, gewöhnlich der bipolaren, kleinen, gramnegativen Stäbchenbakterien der hämorrhagischen Septikämie (Pasteurellen), wohl auch der Pneumokokken oder Diphtheriekokken, festzustellen. Die Forscher fanden daneben wohl

konstant noch andere Bakterien, die man aber vernachlässigte, weil man sie als unwichtig betrachtete. Da nun aber die Bedeutung der Pasteurellen doch eine fühlbare Beschränkung erlitten hat, so ist die Zeit gekommen, auch andere Mikroorganismen zu berücksichtigen; nicht um an Stelle der gestürzten Götzen diese neuen Arten auf den Altar zu erheben, sondern, um in bescheidener Arbeit die Naturforschung nach dieser Richtung zu fördern.

Es ergab sich, daß in den Lungen von Kälbern und Schweinen bei Pneumonie gelegentlich auch recht stattliche Hefen sich befinden.

Als Ueberblick der meinen Untersuchungen zugrunde liegenden Fälle sei an dieser Stelle ein kurzer Auszug aus den Sektionsberichten des hiesigen veterinär-pathologischen Institutes mitgeteilt.

#### A. Kälber.

1) Bei einem Kalbe fand sich in der Lunge *Trichophyton tonsurans* nach der älteren Nomenklatur, oder *Trichophyton faviforme discoides* (Sabouraud) nach der neueren Bezeichnungsart. Daneben *Torula suis* 3 var.  $\alpha$ . Die ausführliche Anamnese findet der Leser im 2. Teil.

2) Aus dem diphtheritischen Eiter der Kopf- und Nasenhöhlen eines notgeschlachteten Kalbes wurden *Monilia vituli* und *Torula vituli* rein dargestellt.

3) Milz einer 5 Jahre alten Kuh, die seit einem Jahre wiederholt an Fieberanfällen, von allgemeinem Ekzem begleitet, litt. Beim letzten Kalben erkrankte das Tier wieder, wobei hartnäckige Oedeme, Fieber, Herzaufregung (90 Pulse, 60 Atemzüge) und Versagen des Futters die Hauptsymptome waren. Bei der Schlachtung fand man eine Endocarditis. Die Milz ist nicht vergrößert. Im Gewebe mehrere nußgroße, unregelmäßige, derbe Knoten von elastischer Beschaffenheit. Schnittfläche homogen, blaß, lehmartig. In Kulturen wachsen *Torula suis* 2 var. c, und *Mucor rhizopodiformis*.

#### B. Schweine.

4) Anamnese unbekannt. — In der Lunge befinden sich einige haselnußgroße, derbe, dunkelrote Herde mit der mikroskopisch nachweisbaren Hefe *Torula suis* 2 var. a; solche findet man auch im Magen, im Dickdarm, in der Leber und in den Nieren, obwohl diese Organe makroskopisch unverändert sind. In den Blutgefäßen sind weder Hefen noch Bakterien nachzuweisen. Doch enthalten sie viel körniges Pigment.

5) Die Oekonomie eines Krankenhauses sendet die pathologisch veränderte Lunge eines Schweines zur Sektion mit der Bemerkung, daß seit 4 Monaten viele Tiere, die in ihrem Bestande eingehen, eine derart veränderte Lunge aufwiesen. Die rechte Lunge ist zum Teil lufthaltig, nicht vergrößert, rotgefleckt, zum Teil groß und luftleer. Zupfpräparate zeigen viele Makro- und Mikrocyten mit eingeschlossenen Hefen. In Kulturen aus der Lunge wächst *Torula suis* I üppig. Mikroskopische Schnitte der Lunge zeigen das Bild der Lungenkongestion. Die Lymphfollikel sind unverändert.

6) In einem Schweinebestande gingen im Frühjahr 7 Stück, davon 4 auf einen Schlag, ohne vorhergehende Krankheitserscheinungen zugrunde. Sektionsbefund: Herzhyperämie, Enteritis. In der Leber viele kleine Blutungen. Aus derselben wurden Fadenpilze, nämlich *Oidium suis*, isoliert, deren Gegenwart schon mikroskopisch konstatiert worden war. Ferner fand man in der Leber viele fadenbildende Stäbchen.

7) Zur Sektion gelangten die Organe eines Schweines behufs Untersuchung auf Rotlauf oder Schweineseuche. Das Resultat dieser Untersuchung war negativ. Dagegen fand man in den schwach hyperämischen Lungenlappchen und in der Leber große, runde und längliche Oidien. In Kulturen wachsen das *Oidium suis* und sporenhaltige Stäbchen.

8) Ferkel: war 3 Tage krank; ein Lungenlappen hellbraun-rot und vollständig hepatisiert, einige Zellen von *Oidium suis*. In der Milz sind diese neben Stäbchen zahlreich vorhanden.

9) Schwein, 3 Monate alt. In der Trachea feinblasiger Schaum, auf der Pleura beiderseits ein ausgebreiteter Fibrinbelag. Einzelne Lungenlappen groß, derb, luftleer, von grauer Farbe. Im Strichpräparat aus der Leber einzelne Hefen, deren Kulturen früh abstarben.

10) Schwein, 3 Monate alt. Lungen stark vergrößert; die Bronchialdrüsen bilden ein festes Paket; auf ihrer Schnittfläche kommen zahlreiche, käsige Einlagerungen zum Vorschein. In den Bronchien ein zäher Schleim und feinblasiges Serum. Auf der Pleura bindegewebige Auflagerungen und kleine Tuberkel. Das Lungengewebe ist grau, stellenweise luftleer, mit Verkalkungen. Portaldrüse groß, mit verkästen Herden. Im

Lebergewebe eine Anzahl grauer Punkte. Strichpräparate zeigen Tuberkelbacillen und nach Gram färbbare Hefen, die leider früh zugrunde gingen.

11) Schwein, 8 Monate alt, plötzlich umgestanden. Herz groß, Blut schlecht geronnen. Blutung aus der Nase, Haut auf der unteren Seite blaurot. Lymphdrüsen geschwollen, dunkelrot. Milz klein, Pulpa blaurot. In Strichpräparaten Kokken, große gramnegative Stäbchen, kleine grampositive Stäbchen, die jedoch dicker als Rotlaufstäbchen sind. Auf Agar-Agar wachsen viele *Oidium suis*.

12) Schwein, notgeschlachtet. Milz groß, Ausmaß 55/12/3 cm. Gewicht 1550,0 g. Milztumor, Pulpa weich, rotfleckig. In der Lunge mikroskopisch kleine, pneumonische Herde. Im Strichpräparat aus der Milz sieht man keine Hefen, dagegen wächst in Kulturen *Oidium suis*.

13) 2 frisch angekaufte Schweine,  $\frac{1}{4}$  Jahr alt. Nach 2 Tage langer Krankheit verminderte Freßlust, anhaltendes Liegen, plötzlicher Tod. Befund: Lunge groß, Mesenterialdrüsen etwas vergrößert, dunkelrot. Im Strichpräparat feine grampositive Stäbchen. In Kulturen wachsen *Torula suis* 2 var. b.

14) Organe eines Schweines aus einem Bestande von 300 Tieren, von denen einige plötzlich verendeten. Befund; Enteritis. Diagnose: Futtervergiftung. Keine Bakterien. In Kulturen wachsen kleine Hefen, die jedoch vorzeitig abstarben.

15) Schwein: Anamnese unbekannt. In den Bronchien viel Strongyliden, keine Bakterien, daneben eine große Hefe, die aber vor der Bestimmung zugrunde ging.

16) Lunge eines Schweines: Einzelne Lappen groß, gerötet, luftleer. In Kulturen wachsen Hefen, deren Weiterzüchtung versagte.

17) Organe eines Schweines: Lunge teilweise luftleer. Pleura mit Fibrinbelag, Bronchialdrüsen etwas vergrößert. In Kulturen wachsen Hefen, die bald zugrunde gingen.

18) Ferkel, 8 Tage alt, stammend von einem Muttertier, dessen letztjähriger Wurf bald nach der Geburt zugrunde ging. Die diesjährige Nachkommenschaft besteht aus 8 Tierchen, die dicke Häuse bekommen und dann verenden. Befund: Katarrh der oberen Luftwege, Bronchitis. Milz vergrößert, Pulpa blaurot, weich. Gehirn und Meningen im Zustande leichter Entzündung; in Kulturen aus der Lunge wachsen Hefen, deren Weiterzüchtung mir nicht gelang.

19) Lungenteile eines Schweines aus dem Schlachthof: Hepatisierte, gelatinös entartete, hellbraune Partien. Zahlreiche Lobuli enthalten zentral einen trüben Punkt, umgeben von durchscheinendem Gewebe. Außerdem finden sich in dieser Lunge nußgroße Höhlen mit glatter, pigmentierter Wandung und einem dicken, rahmähnlichen, eiterigen Inhalt. Mikroskopischer Befund desselben: Viele gramnegative Stäbchen, viele Pflanzenfasern und Pilzdrüsen. In Kulturen wachsen Hefen, die wegen vorzeitigen Absterbens nicht bestimmt werden konnten.

20) Organe eines Schweines aus einem Bestande von 7 Stück. Das Tier ging plötzlich, ohne irgendwelche Krankheits Symptome gezeigt zu haben, zugrunde. Ähnliche plötzliche Todesfälle kamen in diesem Betriebe schon wiederholt vor. Befund: Im rechten vorderen Lungenabschnitt einige dunkelrote Läppchen, deren Gewebe an der Peripherie, aber nicht um den zentral gelegenen Bronchus luftleer ist. In den Bronchien feinblasiges Serum und ein brauner, zäher Schleim. Uebrigere Organe normal. In Lunge, Milz und Leber viele *Torula suis* 1. In Kulturen wächst außerdem noch *Mucor rhizopodiformis*. Im Bronchialschleim fand man ferner viele zooparasitische Amöben und Stäbchen.

21) Milz eines Schweines mit *Torula suis* 3 var. b.

22) Organe eines notgeschlachteten Schweines. Befund: Eine ausgedehnte, hepatisierende Pneumonie, fibrinöse Pleuritis mit stellenweiser Verklebung der Pleurablätter. Uebrigere Organe unverändert. In der Leber viele Hefen, die vor der Bestimmung zugrunde gingen.

23) Aus der Niere eines plötzlich erkrankten Schweines, die das Bild einer chronischen Nephritis zeigt, wird *Torula suis* 3 var. a. isoliert.

24) 4 Wochen altes Schwein, plötzlich umgestanden. Mesenteriallymphdrüsen stark gerötet und geschwollen. Rechte Niere bedeutend vergrößert, Gewebe feucht. Herz und Lunge blutreich. Bronchialdrüsen stark gerötet und geschwollen. In den Bronchien feinblasiges Serum. Mittlerer Lungenlappen braun, luftleer. In Leber- und Milzkulturen wachsen Hefen, die unbestimmt blieben.

25) 7 Tage altes Ferkel; von 11 Stück dieses Wurfs sind 6 umgestanden, ohne besondere Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben. Befund: Lunge groß, blutreich, überall lufthaltig. Gewebe feucht, enthält etwas feinblasiges Serum. Leber blutreich, groß; Milz ebenso; Nieren blutreich. Im Darm einzelne gerötete Partien. Im Inhalt viele Amöben. Mit den Eingeweiden wurde am 23. Jan. eine Krähe gefüttert; die Tötung derselben erfolgte am 29. Jan. bei vollständig erhaltener Gesundheit. Normaler Sektionsbefund: Im Darm, Leber und Milz hefenähnliche Gebilde, die sich aber nach

Gram und mit Thionin nicht färben lassen. Im Leberausstrich wachsen 2 Hefen, nämlich *Oidium suis* und *Torula suis* 2 var. c.

Zunächst bin ich dem Leser Rechenschaft über das Vorgehen bei der Ernte der Hefen schuldig. Dieselbe geschah in der Art, daß ich die Oberfläche der Organe durch ein glühendes, breites Messer ansengte. Mit einem zweiten ausgeglühten Messer wurde ein Schnitt in die Tiefe geführt und hier Material enthoben, das mit sterilen Geräten auf sterile Nährböden verbracht wurde. Die Organe waren nicht ganz frisch, mit Ausnahme derjenigen der Krähe und des später zu erwähnenden Versuchsschweines.

Ferner fällt die Häufigkeit des frühzeitigen, vor der Bestimmung erfolgenden Absterbens von Hefenstämmen in den Kulturgläsern auf. Diese Erscheinung beruht auf der, mir damals mangelnden Kenntnis von der besten Zusammensetzung der Nährböden. Oft gewannen Schimmelpilze und Sporen bildende Bakterien in den Kulturgläsern mit verhängnisvoller Schnelligkeit die Oberhand.

### Uebersicht der Fundorte von Hefen.

Im ganzen wurden in 26 Fällen Hefen gefunden, und zwar 22mal beim Schwein, 3mal bei Kälbern, 1mal bei einer Kuh und 2 Arten bei einer Krähe. Was den näheren Fundort der Hefen anbelangt, so war 12mal die Lunge, 9mal die Leber, 7mal die Milz, 3mal der Darm, 2mal die Niere, 1mal die Nase mit diesen Pilzen behaftet. Die Organe, in denen Hefen gefunden wurden, sind, wie aus den Sektionsberichten hervorgeht, nicht immer makroskopisch verändert. Weil nun in den meisten Fällen nur Organe, die sichtlich pathologische Veränderungen aufwiesen, untersucht wurden, so darf diese Angabe über Hefenfundorte nicht als vollständig und erschöpfend bezeichnet werden, da vielleicht auch gesunde Organe diese Mikroorganismen beherbergen.

Nach Wirten geordnet war meine Beute somit folgende:

#### A. Vom Kalbe:

Aus der Lunge	2 Stämme
" " Nase	2 "
" " Milz	1 Stamm

#### B. Vom Schweine:

Aus der Lunge	4 Stämme
" " Leber	2 "
" " Milz	4 "
" " Niere	1 Stamm

#### C. Von der Krähe (*Corvus corone*):

Aus der Leber	2 Stämme
	18 Stämme

Nach Species geordnet:

	Kalb	Kuh	Schwein	Krähe	
1) <i>Oidium suis</i> (n. spec.)	—	—	5	1	6
2) <i>Trichophyton faviforme</i> discoides (Sabouraud)	1	—	—	—	1
3) <i>Monilia vituli</i> (n. spec.)	1	—	—	—	1
4) <i>Torula suis</i> 1 (n. spec.)	—	—	2	—	2
5) " " 2 (n. spec.) var. a.	—	—	1	—	1
6) " " 2 (n. spec.) " b.	—	—	1	—	1
7) " " 2 (n. spec.) " c.	—	1	—	1	2
8) " " 3 (n. spec.) var. a.	1	—	1	—	2
9) " " 3 (n. spec.) " b.	—	—	1	—	1
10) <i>Torula vituli</i> (n. spec.)	1	—	—	—	1
					18

Die Eigenschaften der von mir gefundenen Mikroorganismen habe ich genau festgestellt.

### I. Nicht-pathogene Hefen und Fungi imperfecti.

#### 1. *Oidium suis* (n. sp.).

Das morphologische Verhalten dieser Species auf verschiedenen Nährmedien ist, abgesehen von den günstigeren Bedingungen, die die

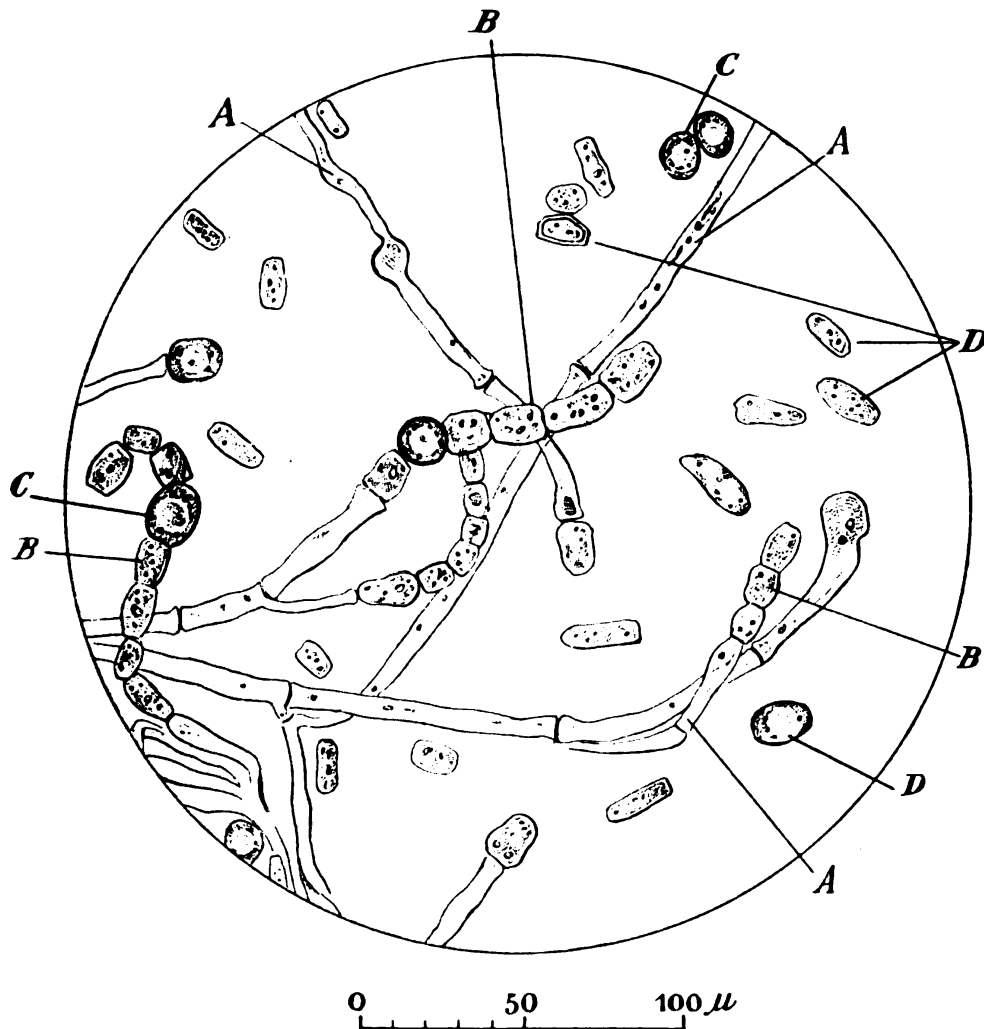


Fig. 1. *Oidium suis* aus einer 5 Wochen alten, verflüssigten Gelatinekultur. Wasserpräparat. A Hyphen. B Konidienkette mit Fettkörperchen. C Konidien mit Vakuole und Vakuolenkörperchen. D Hefenform.

verflüssigte Gelatine einer typischen Konidienbildung bietet, und von den eigentümlichen plasmatischen Modifikationen auf weinsaurem, traubenzuckerhaltigem Agar im großen und ganzen immer das gleiche. In tierischen Organen allerdings findet man ausschließlich die Hefenformen, wie dies aus den Sektionsbefunden hervorgeht, während in vitro eine üppige Hyphenvegetation nie vermißt wird.

Unter dem Mikroskope, als Wasserpräparat einer Agarkultur entnommen, bietet der Pilz das Bild eines Gemisches von runden, ovalen,



langen Zellen und Fadengebilden. In älteren Kulturen wiegen die Einzelelemente vor; in jungen die Hyphen; in den flüssigen, sauren Medien schließlich findet man fast nur stark verzweigte Hyphen.

Die runden Zellen messen 5—10  $\mu$  im Durchmesser (Fig. 1 C). Die ovalen, selteneren Formen sind bald rein oval, selten eiförmig, mit einem stumpfen und einem spitzen Pole (Fig. 1 D); viele Zellen sind regelmäßig zylindrisch, andere tonnenförmig.

Die Pole der Zelle sind von einer schwach gewölbten Kugelfläche begrenzt. Die langen Zellen messen 5—6  $\mu$  im Querdurchmesser und  $7\frac{1}{2}$ —14  $\mu$  in der Länge. Ferner trifft man auch ganz lange Formen an von gleicher Dicke, wie die obigen, deren Länge bis zu 26  $\mu$  betragen kann. Die Hyphenfäden sind gefächert (Fig. 1 A). Oft wird die Scheidewand außen durch eine ringförmige Leiste markiert. Die Hyphen sind verzweigt. Die Verzweigung hat keine Beziehung zur Scheidewandbildung. Sie ist oft dichotom. Das Fadenende bildet meist ein sehr langes Glied. Diese schlauchförmige Zelle kann sich gegen die Spitze zu etwas verjüngen. Eine leichte Schlängelung des Fadenendes kann auch vorkommen. Hier können Konidien gebildet und abgestoßen werden (Fig. 1 B). In diesem Falle ist der Faden gleichmäßig dick und die Endzelle nur kurz. In gewöhnlichen Nährmedien sind die Fäden von gleichmäßiger Dicke. Die Maße variieren zwischen 2,5 und 10  $\mu$ . In ungünstige Nährverhältnisse gebracht, bilden sich oft rundliche Anschwellungen und Verdickungen mannigfacher Form und Größe, z. B. auf Gipsplättchen, deren glatte Oberfläche vom Pilz erodiert wird. Die Zellmembran ist überall scharf und deutlich gezeichnet. Konidien und Hyphen zeigen oft auch doppelte Konturen. Der Zellinhalt ist bei jungen Zellen homogen, blaß oder er erscheint feinkörnig. In Agarkulturen treten bald hellere Vakuolen im Protoplasma auf. Diese sind in runden und länglichen Zellen meist in der Einzahl vorhanden. Sie nehmen hier eine kreisrunde, d. h. kugelige Form an. In den langen Zellen und in den Hyphen sind sie lang gestreckt und oft mehrere hintereinander geschaltet. In älteren Kulturen verdrängen sie das Zellplasma bis auf eine dünne, wandständige Schicht. Dieses selbst erscheint grobkörnig, indem es runde, tropfenförmige Körperchen in verschiedener Anzahl und von ungleicher Größe enthält. Auffallend ist das stärkere Lichtbrechungsvermögen derselben. Die größeren gruppieren sich am Vakuolenrand. In der Vakuole selbst ist nicht selten ein lebhaft tanzendes, 1  $\mu$  großes, sehr stark lichtbrechendes Körnchen zu finden.

Durch Jod-Jodkalilösung bräunen sich die Zellmembran sowohl wie das feinmaschige Plasma deutlich. Bei Behandlung mit verdünnter Osmiumsäure treten die obengenannten, korpuskulären Zelleinschlüsse besser in die Erscheinung, indem sie ebenfalls eine dunklere, bräunliche Farbe annehmen. Die Zellen enthalten demnach Glykogen und als Reservestoff wird eine Fettsubstanz in Form von Oelkörperchen aufgespeichert. Die Lösung des eigentlichen Fettes in diesen, vermutlich kompliziert aufgebauten Oelkörperchen in Alkohol und Aether, gelingt nur schwer. Auf jeden Fall muß durch Alkohol zuerst das Wasser entzogen, dann kann das Fett durch Aether gelöst werden.

Mit den gebräuchlichen Anilinfarben lassen sich die Zellen gut färben. Sie sind auch grampositiv. Bei Behandlung lebender Zellen mit Loefflers Methylenblau färben sich die Vakuolen rot, das Plasma blau. Infolge Fixation der Präparate durch Wärme verändern die Zellen oft ihre Form. Der komplizierte Aufbau, in dem Fett und flüssiger

Vakuoleninhalt miteinander abwechseln, erklärt dies zur Genüge. An Stelle der Vakuole tritt jetzt eine ungefärbte Lücke, die das Protoplasma in 2 polständige Portionen trennt. Dieselben bleiben oft durch einen Strang miteinander verbunden. Bei Doppelfärbungen erscheint das Protoplasma blaß gefärbt. In demselben heben sich durch ihre dunklere Färbung scharf begrenzte Körper, die Zellkerne, hervor. Diese sind oft körnig, von unregelmäßiger Form, oft erscheinen sie linear-halbmondförmig oder sichelförmig, woraus ihre Scheibenform erkennbar wird (Fig. 2 1).

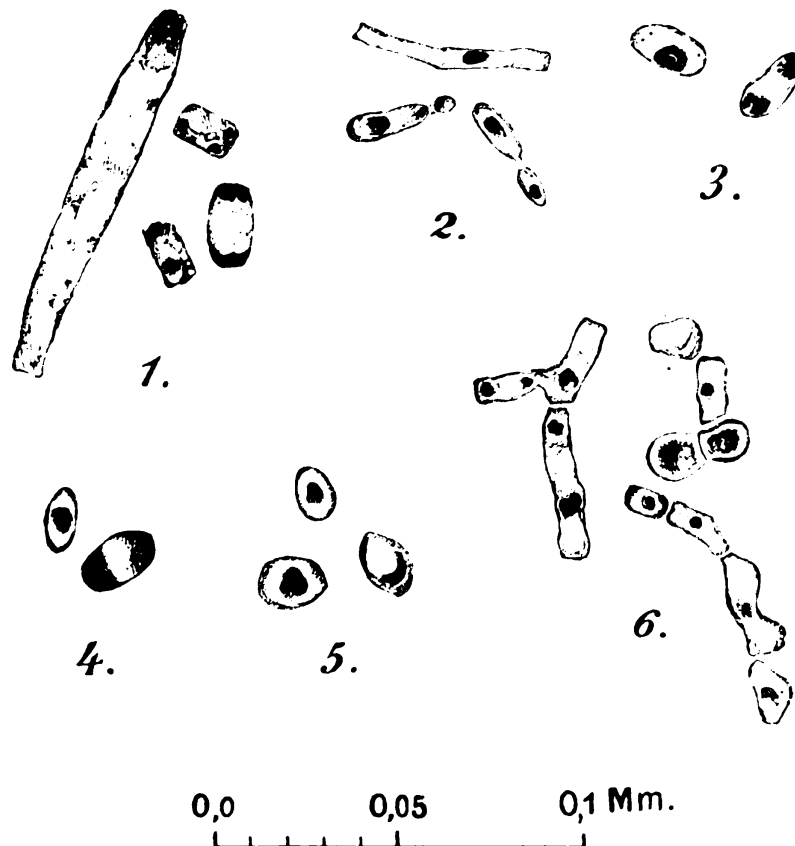


Fig. 2. Kerne bei verschiedenen Fungi imperfecti. 1 *Oidium suis*. 2 *Monilia vituli*. 3 *Torula suis* 1. 4 *Torula suis* 2, var. c. 5 *Torula vituli*. 6 *Trichophyton faviforme discoides*.

In den Zellen ohne Vakuolen ist nur ein runder Kern sichtbar, der sich meist in der Mitte der Zelle befindet. Daß es sich um Zellkerne handelt, geht auch aus dem Verhalten dieser Gebilde bei der Vermehrung der Zelle hervor. Der Kern befindet sich dann an der Stelle, wo der Keimschlauch gebildet wird. Nicht selten findet man hier mehrere Kerne, welcher Umstand auf eine erfolgte Kernteilung hindeutet. Kernteilungsfiguren wurden nicht beobachtet. — Die Kernfärbungen wurden nach folgender Technik ausgeführt:

Das Kulturenmaterial wurde auf einem, mit Eiweiß in dünner Schicht bestrichenen Deckglase verrieben und wie folgt behandelt.

Fixation in einer gesättigten Sublimatlösung, die mit  $\text{HNO}_3$  schwach angesäuert war = 1 St.

Abspülen mit  $\text{H}_2\text{O}$

Tinct. jod. = 1 St.

Härten in Alkoh. absol. = 1 St.

Abspülen mit H<sub>2</sub>O

Färben in { Hämatoxylin = 1 St.  
oder Magenta = 2 Min.

Differenzieren { die Hämatoxylinpräparate in Alaunlösung  
die Magentapräparate in Alkohol.

Doppelfärbung der Hämatoxylinpräparate mit Eosin = einige Sek.

Behandlung der Präparate mit:

Alkohol

Xylol

Einbetten in Kanadabalsam.

**Kulturen:** Der Pilz wächst sehr schnell auf den gebräuchlichen festen Nährböden. Auf Peptonagar und Gelatine sind Kulturen schon nach 24 Stunden gut sichtbar, und in einigen Tagen ist bereits der ganze Boden mit einem charakteristischen, weißen Flaumrasen überwachsen. Bei Strichimpfung ist die Mittellinie der Kolonie erhöht. Seitlich davon ist oft eine leichte, parallele Querfaltenbildung, wie sie deutlicher noch in der unbehaarten, schmalen Randzone zum Ausdruck kommt, angedeutet, so daß das Bild einer solchen Kolonie sich mit einer Vogelfeder vergleichen läßt. Der unbehaarten, glänzenden Randzone schließt sich noch eine gleich breite Strahlenzone an, indem von ihr strahlenartig verzweigte Pilzfäden sich horizontal auf dem Boden hin erstrecken. In Plattenkulturen ist dieses zentrifugale, radiäre Wachstum mit ausgeprägter Zonenbildung noch deutlicher. Hier ist auch der bald eintretende, Oidium-ähnliche Zerfall des Myceliums am besten zu beobachten. Auf Gelatine treiben die Kolonien von ihrer unteren Seite eine langhaarige, büstchenförmige Vegetation tief in den Boden hinein, worauf dieser langsam verflüssigt wird. In älteren Agarkulturen ist der weiße Flaumbelag durchnäßt. Die Lufthyphen legen sich glatt nieder, oder bilden hier und da auch Zotten und Käme. Die Kulturen nehmen eine schmutzig graubräunliche Farbe an. Die Oberfläche wird glänzend. Von ihr läßt sich mit der Platinöse eine milchige Flüssigkeit abstreifen, die sehr viele Einzelzellen enthält. Das Kondenswasser, das durch eine üppige Hautbildung bald überwachsen wird, reagiert stark alkalisch. Den Kulturen entströmt anfangs ein angenehm aromatischer Geruch, der besonders beim Verreiben von Material zwischen 2 Objektträgern wahrnehmbar wird. Ältere Kulturen haben einen unangenehmen, an Schwefelkohlenstoff erinnernden Geruch. — Als ein sehr günstiger Boden für diesen Hyphomyceten erwies sich der Agarboden nach Sabouraud:

Rp.	Aqua font.	1000,0
	Glukose	40,0
	Agar	18,0
	Pepton	10,0
	Acid. tartaric.	3—5,0

**Wärmeverhältnisse.** Die Versuche ergaben, daß eine Temperatur von — 6° C innerhalb 24 Stunden den Pilz nicht tötet. Bei 15° war eine geringgradige Entwicklung erst nach 2 Tagen makroskopisch zu erkennen. Bei 10° fand kein Wachstum statt. Die untere Wachstumsgrenze liegt demnach etwas tiefer als 15° C. Bei 30° war das Wachstum am intensivsten, bei 40° nur spurenweise, bei 41° Null. Die obere Wachstumsgrenze liegt zwischen 40° und 41° C. — Ferner wurde bestimmt, bei welchem Wärmegrad die Vernichtung eintritt. Die Versuchsanordnung war folgende: Von gleich alten Gelatinekulturen wurde eine Oese Material auf schrägen Sabouraud-Boden verimpft und die Proben bei freiem Luftzutritt im Wasserbade möglichst unter-

getaucht erhitzt. Eine parallele Versuchsreihe wurde mit Material aus Sabouraud-Kulturen angesetzt. Die Ergebnisse dieser Versuche weichen untereinander etwas ab, sowohl für die Stämme der gleichen Versuchsreihe, als auch für den gleichen Stamm, wenn er auf Gelatine und auf Sabouraud gewachsen ist. Es wurde stets darauf geachtet, daß das Impfmateriel nicht in das Kondenswasser gelangte. Allgemein kann man annehmen, daß eine Temperatur von 63° C die Gelatinekulturen, eine solche von 65° die Sabouraudkulturen bei einer Einwirkungs-dauer von 10 Minuten tötet (vgl. die Tabelle auf p. 286). Gegenüber Austrocknung ist der Pilz ziemlich widerstandsfähig. Bei Bruttemperatur auf sterilem Filtrierpapier in einer Petrischen Schale getrocknet, gingen nach 2 Wochen Kulturen noch prompt auf, nach 25 Tagen nicht mehr.

Bedeutung des Sauerstoffes: In Agarkulturen, die mit Paraff. liquid. überschichtet wurden, wuchs der Pilz nicht. Darauf wurden Schüttelkulturen mit Sabouraud-Agar hochgeschichtet angelegt, und auch hier war im Innern des Agarzylinders kein Wachstum zu konstatieren. Der Pilz ist somit strikte aërob.

Verhalten gegenüber festen, zuckerhaltigen Böden.

A. Milchzuckeragar mit 1-, 2- und 4-proz. Zuckergehalt als a, b, c bezeichnet: Zur Herstellung dieser Böden versetzte man süße Molke, deren Zuckergehalt zu 4 Proz. angenommen wurde, mit 2 Proz. Agar und 10 Proz. Pepton. Für die 1- und 2-proz. Böden wurde die Molke, um den gewünschten prozentualen Zuckergehalt zu erhalten, zuerst mit Bouillon in entsprechenden Mengen verdünnt. Sämtliche Böden wurden mit Sodalösung, bzw. Weinsäure neutralisiert.

Bei Bruttemperatur sind die Kulturen nach 24 Stunden üppig gewachsen, und zwar viel intensiver als auf gewöhnlichem Nähragar. Die Luftmycelbildung ist ausgeprägter. Die glatte Randzone der Kolonien fehlt. Dafür ist die Fadenbildung in der Randstrahlenzone dichter. Eine Differenz der Wachstumsintensität auf den verschiedenen Böden ist schon jetzt festzustellen. Auf 4-proz. Milchzuckerboden ist das Wachstum nicht reger, als auf gewöhnlichem Agar. Am besten gedeiht der Pilz auf dem 1-proz. Boden. Hier ist nach 48 Stunden die ganze Oberfläche überwachsen. Das Kondenswasser ist von einer dicken, filzigen, sich in niedrige Falten legende Haut, deren Oberfläche ebenfalls Luftmycel bildet, eingeschlossen. Dieses selbst reagiert noch neutral, später aber alkalisch. Nach 8 Tagen trübt es sich, infolge von Bildung eines leicht flockigen Niederschlages. Die 2-proz. Milchzuckerböden sind dem Pilze ebenfalls sehr zusagend. Nach 4 Tagen ist hier kein wesentlicher Unterschied in der Entwicklung der Kolonien, im Vergleich zu jenen auf 1-proz. Zuckerboden festzustellen. Die 4-proz. Zuckerkulturen bleiben aber im Wachstum stark zurück. Am besten gedeiht hier das Oidium aus Fall No. 8. Das Optimum dürfte in 1-proz. Milchzuckergehalt gegeben sein.

B. Traubenzuckeragar 1-, 2-, 4-proz. Zuckergehalt a, b, c: Die Böden wurden mit Traubenzucker, Bouillon, Pepton und Agar-Agar, analog den vorigen, hergestellt. Sie waren neutral. Hier entfaltete sich ein noch intensiveres Wachstum als auf 1-proz. Milchzuckeragar. Die Kolonien entwickelten sich in allen 3 Fällen gleich gut. Die Flaumbildung ist so stark, daß die Härchen sich bald in Zotten legen, bevor der Rasen durchnäßt ist. Der angenehme, ätherische Geruch aus den Röhrchen ist intensiv, besonders bei den Kulturen auf Agar mit niedrigem

Zuckergehalt. Die Reaktion des Bodens wird nach 24 Stunden sauer, und zwar auf 4-proz. Zuckerböden am deutlichsten. Nach 48 Stunden tritt in bemerkenswerter Weise die alkalische Reaktion ein, am schwächsten ausgeprägt im 4-proz. Boden. Nach 4 Tagen reagieren die Kulturen überall stark alkalisch.

Aus diesen Kulturversuchen geht hervor, daß diese 2 Zuckerarten sich gut eignen für die Ernährung des Pilzes, ganz besonders der Traubenzucker, und zwar ohne Rücksicht auf den Umstand, ob 1-, 2- oder 4-proz. Glukose vorhanden sei. Die Säurebildung fördert das Wachstum sehr, während auf milchzuckerhaltigem Boden die bald eintretende Alkaleszenz ein steigendes Wachstumshindernis abgibt. Auch flüssige, zuckerhaltige Nährböden wurden in die Untersuchung einbezogen, und zwar Peptonbouillon mit Milch-, mit Trauben-, mit Rohrzucker und ferner ungehopfte Bierwürze, diese als Lösung von Maltose. Die Lösungen waren 10-proz. und mit Weinsäure angesäuert. Es zeigte sich, daß die Würze dem Pilze einen ebenso guten Boden darbietet, wie die Traubenzuckerlösung. Die Saccharose und die Laktose schaffen in dieser Konzentration weniger günstige Bedingungen. Immerhin bildeten sich überall mächtige, filzige Decken, die wenig einsinken. In älteren Kulturen tritt eine leichte Trübung der Flüssigkeit ein.

Gärversuche: Da die Saccharide ein gutes Nährmedium sind, lag die Frage nahe, ob der Pilz Zucker unter Bildung von Kohlensäure zu vergären vermag. Zur Ermittlung dieser Eigenschaft wurden in sauer reagierender Bierwürze Kulturen angelegt, sowie in 10-proz. Saccharose-, Glukose-, Laktose-Peptonbouillonlösungen, die mit Weinsäure schwach angesäuert worden waren. In allen Lösungen entfaltete sich ein intensives Wachstum an der Oberfläche. Die Würze wird entfärbt. Da das Saccharometer für meine Versuche nichts taugte, so wurde die Methode von Burri und Duggeli (1) zur Anwendung gebracht. Bei derselben kommt über der Flüssigkeit noch eine etwa 5 cm hohe, abgeschlossene Luftsäule vor. Zuerst wurde die Würze vergoren; es bildete sich hier überall Gas. Der Agarpfropfen stieg um einige Zentimeter. Alle 6 Stämme vergären die Glukose ebenfalls, doch weniger stark als die Maltose. Das Gärvermögen gegenüber der Saccharose und Laktose ist ein wechselndes. Manche Stämme dieser Species bauen auch aus diesen Zuckerarten Kohlensäure ab, andere nicht. Auffallend ist die Erscheinung, daß die meisten Stämme vor Eintritt der Gasbildung durch Luftabsorption den Pfropfen etwas zum Sinken bringen. Eine parallele Versuchsreihe in völlig zuckerfreier Flüssigkeit ergab überall nicht nur keine Kohlensäurebildung, sondern eine Gasverzehrerung. Das gebildete Gas trübt Kalkhydratlösung durch Bildung des unlöslichen Calciumkarbonates. Es handelt sich somit um Kohlensäure.

Kulturversuche auf sauren Böden: Wie oben dargetan, wird eine Azidität des Bodens vom Pilze bevorzugt. Das Verhalten desselben gegenüber einigen Säuren in bestimmter Konzentration wurde durch die folgenden Versuchsreihen geprüft:

I. Salzsäureböden,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$ , 1, 2 Proz. Gehalt an chemisch reiner Salzsäure, als a, b, c, d bezeichnet. Neutrale Peptonagarbouillon wurde mit frischer, in der Apotheke käuflicher Salzsäure (Acid. hydrochlor.) vom spez. Gew. 1,124 und einem Gehalt an Chlorwasserstoffgas von 25 Proz., entsprechend dem gewünschten Säuregehaltes des Bodens, versetzt. Der Agargehalt wurde auf 8 Proz. erhöht, um, wenn möglich, noch feste Böden zu erhalten. Dieselben blieben jedoch flüssig. Ein voluminöser

Niederschlag, der sich beim Kochen vorübergehend löste, lagerte auf dem Gefäßboden. Auf ein  $\frac{1}{4}$ -proz. Säureboden konnten erst nach 9 Tagen die ersten Anzeichen einer Vegetation in Form von kleinen Inselkolonien, die bald spärlich auch Luftmycel bildeten, beobachtet werden. Die anderen Kulturen gingen nicht auf. Eine parallele Versuchsreihe wurde in salzsaurer Bierwürze angesetzt von einem Säuregehalt von 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 Proz. Es wuchsen hier alle Stämme auf 0,2-proz. Säureboden, auf 0,3-proz. Säure nur einzelne, in Form einer flockigen Trübung. Sämtliche nicht gewachsenen Kulturen wurden auf Sabouraud überimpft. Jene der ersten Reihe erwiesen sich (nach 9 Tagen in HCl) als tot. Von denen der II. Reihe, die nach 5 Tagen übergeimpft wurden, waren einzelne, die in 0,4-proz. Salzsäure gezüchtet wurden, noch keimfähig. Keime, die 14 Tage lang in der HCl-Würze lagen, waren tot. Die Reaktion der Böden, in denen Kulturen gewachsen waren, blieb unverändert. Der Pilz greift die Salzsäure nicht an.

II. Milchsäureböden,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$ , 1, 2 Proz., als a, b, c, d bezeichnet. Die Böden wurden analog den vorigen mit Acid. lactic. (85 Proz. Milchsäure, 15 Proz. Wasser) hergestellt. Die  $\frac{1}{4}$ -proz. Säureböden waren fest.

Schon nach 24 Stunden war auf den Böden mit niedrigem Säuregehalt gutes Wachstum zu bemerken. Nach 4 Tagen waren auch in c kleine Inselkolonien gebildet, und nach 8 Tagen war der Pilz überall gewachsen. Das Verhalten der Reaktion des Bodens war folgendes: Nach 4 Tagen reagierte das Kondenswasser in a stark alkalisch, in b amphoter. Nach 8 Tagen ist die Reaktion in c ebenfalls neutral und geht später in die alkalische über. In d tritt die alkalische Reaktion am spätesten ein; nach 5 Wochen ist die Alkaleszenz auch hier stark.

III. Weinsäureböden,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$ , 1, 2 Proz., als a, b, c, d bezeichnet. Auch hier erstarrte der Agar nur in a; 3 Tage nach der Impfung waren die Stämme bei Bruttemperatur überall gut gewachsen, am intensivsten bei niedrigem Säuregehalt des Bodens. Die Wachstumsintensität ist hier bedeutend höher als auf Milchsäureböden. Die Reaktion des Bodens war nach 5 Tagen in a alkalisch, nach 10 Tagen in b schwach sauer bis neutral, nach 4 Wochen in d noch immer sauer. Das Säuretilgungsvermögen ist gegenüber Weinsäure geringer als gegenüber Milchsäure.

Das Wachstum dagegen ist auf Weinsäureboden ein besseres, weil eben die saure Reaktion dieses Bodens längere Zeit anhält.

### Sporenbildung.

Die hauptsächlichste Vegetationsform dieses Pilzes ist die Bildung eines echten Myceliums. Dieses selbst ist aber nicht von langer Dauer. Es zerfällt bald oidiumähnlich in die oben beschriebenen Hefenformen. Vorübergehend bietet die zerfallende Hyphe das Bild einer zickzackförmigen Kette dar. Selbst lange Zellen teilen sich noch nachträglich nach vorheriger Scheidewandbildung in der Mitte. Unter gewissen Bedingungen, z. B. im Bodensatz der verflüssigten Gelatine, bildet der Pilz Conidien, die auf kurzen Trägern in Ketten abgeschnürt werden (Fig. 1 B). Das letzte Kettenglied ist die älteste Konidie. Nur selten kommt es auch zur Bildung mehrerer Ketten auf einem Träger. Mikroskopisch unterscheiden sich die Konidien nicht von den vegetativen Zellen. Sie können sogar Vakuolen enthalten. Ihre Form ist fast immer die runde (Fig. 1 C). Sie erscheinen oft doppelt konturiert. Junge Konidien färben sich durch Jod stark braun. Sie treiben, wie alle

anderen Zellen, einen langen Keimschlauch, der sich alsbald fächert und zerfällt.

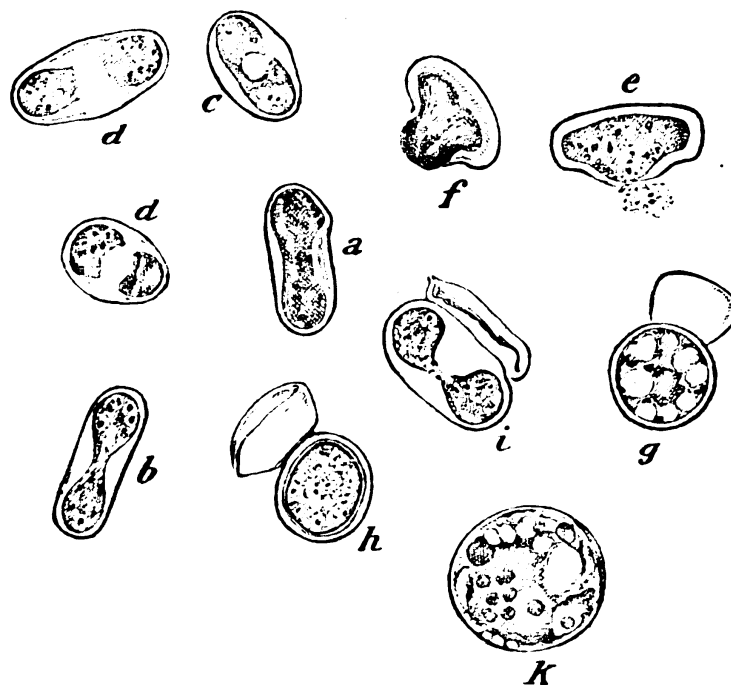
Um eine eventuelle Sporenbildung zu erzielen, wurde von jungen, 2mal umgeimpften Kulturen Material auf sterilen Gipsplatten verschiedenen Temperaturen ausgesetzt, analog der Versuchsanordnung, die in der Literatur für die Sporenbildung bei den Saccharomyceten angegeben ist. Das Resultat war eine vermehrte Konidienabschnürung, sowie Bildung rundlicher Hyphenanschwellungen, die jedoch der Chlamydosporenbildung nicht gleichgestellt werden dürfen. Im übrigen trat bei allen Zellen in diesem Hungerzustande eine intensive Vakuolenbildung ein. Eine zweite Versuchsreihe schien wünschenswert. Proben wurden zu wiederholten Malen in einem Agar- oder Bouillontropfen auf einen Objektträger gebracht und mit einem Deckglase zugedeckt. Einzelne Kulturen feuchtete ich nach dem Eintrocknen an der Luft wiederholt an. Andere versetzte ich in eine feuchte Kammer. Zentral gelegene Hefen wuchsen nicht. Diejenigen an der Peripherie trieben schnell, besonders in der feuchten Kammer, lange Keimschläuche. Konidienbildung wurde hier nicht beobachtet, auch nicht bei denjenigen Hyphen, die den Rand des Substrates überwuchsen und hier einen Kranz weißen Luftmyceliums bildeten.

Die früher erwähnten, plasmatischen Modifikationen des Zellplasmas in Sabouraud-Kulturen ließen eher an eine endogene Sporenbildung denken. Auffallend war schon der Umstand, daß die Hefezellen auch bei alten Kulturen höchst selten Vakuolen zeigten. Ferner drängte sich schon beim ersten Blick ins Mikroskop die Tatsache auf, daß hier der Zellinhalt nicht überall der gleiche war. Ich beobachtete Zellen mit 1—3 großen, bräunlichen, lichtbrechenden, bis 7  $\mu$  messenden Kernen, solche mit vielen tropfenförmigen, runden, gleich großen Körnern, die im Protoplasma dicht gesät waren, und Zellen mit dichtem, feinkörnigem Inhalte; endlich auch Elemente mit feinschaumigen blassem Inhalte. In Jod-Jodkali gebracht, bräunten sie sich, entsprechend ihrem Glykogengehalt, während die Osmiumsäure die korpuskulären Zelleinschlüsse besser zum Vorschein brachte. Es handelt sich demnach hier um fettreiche und glykogenreiche Zellen, neben fettarmen und glykogenarmen Individuen. In den fettreichen Zellen kann das Fett in Form traubig geordneter Tropfen enthalten sein, oder zu größeren schollenartigen Klumpen konglomerieren.

Neben diesem Befund kann man auch cytolytische Vorgänge feststellen. Einmal zieht sich das Plasma von der Zellwand zurück (Fig. 2e), vorwiegend bei den fettreichen Zellen mit traubigkörnigem Inhalt. Die Zelle erscheint dann doppelt konturiert. Sodann bildet sich seitlich am Plasmaklumpen ein kleiner, stumpfer Höcker, der die Membran erreicht und sie hervorwölbt. Diese verdünnt sich an dieser Stelle und wird schließlich vom nachdrängenden Plasma durchbrochen (Fig. 3e). Die Zelle entleert sich zum Teil. Der entleerte Zellinhalt hängt an der Durchbruchstelle und, wenn er später abgestoßen wird, so schwimmen die gelösten Körner frei im Präparate, eine Verunreinigung desselben vortäuschend. In den runden, glykogenreichen Zellen wird auch eine regelmäßige Zurückziehung des Protoplasmas von der Zellhaut bemerkt, und ebenso in den langen Formen. Hier ist die Einziehung in der Mitte stärker (Fig. 3a, b), wobei die Zellmembran sich nach innen manchmal flach einbuchtet. Das Zellplasma bildet eine Doppelsohlenform, schnürt sich in der Mitte immer mehr ein und geht in die Hantel-

form über. Schließlich kann es sich in 2 runde, polständige Körper gliedern. Es kommt übrigens auch vor, daß die Einschnürung nur von der einen Seite erfolgt, und zwar oft als kreisbogenförmiger Einschnitt (Fig. 3c), oder auch als spitzer Keil.

Diese plasmatischen Gebilde, mögen sie ganz voneinander getrennt, oder, wie es meist der Fall ist, noch mit einem Strang verbunden sein, können schlauchförmig in der alten Zelle auskeimen, wobei die leere Membran zuerst gedehnt, dann durchbrochen wird. Diese beschriebene Erscheinung ist selten, und ich konnte das Verhalten dieser Pseudosporen nicht weiter verfolgen, um so weniger, weil daneben gleichzeitig noch andere Vorgänge sich abspielen, die ebenfalls Sporenbildung vor-



*Stark vergrößert.*

Fig. 3. Oidium aus weinsauem Traubenzuckeragar mit Jod-Jodkali gefärbt, a—d Teilung des Zellplasmas; e Austritt von Plasma; f Amöboide Bewegung des Protoplasmas; g neue Zellen mit anhängender Membran der Mutterzelle; h—i Trichterbildung durch Einstülpung der alten Zellhaut; k Riesenzelle mit großen Fettschollen.

täuschen. Dabei handelt es sich auch um die glykogenreichen Zellen von runder und langer Form. Anfangs ist der Vorgang der gleiche, wie bei den fetthaltigen Zellen mit traubigkörnigem Inhalt, nämlich periphere Retraktion des Plasmas mit Bildung eines Höckers, sei es in der Mitte der Seitenwand, gegen den Pol hin, oder an diesem selbst. Auch hier wird die Zellmembran vorgewölbt, sie reißt aber nicht; die Ausbuchtung wird immer größer, ebenso der leere Raum in der Zelle. Die Form, die das Protoplasma während dieser amoeboiden Wanderung annimmt, kann mannigfaltig sein. An der Austrittsstelle ist der Plasmaklumpen meist etwas eingeschnürt (Fig. 3f). Seine Umgrenzung ist aber immer scharfrandig. Hat das Plasma die alte Zelle verlassen, so nimmt es immer die runde Form an und ist von einer neuen Membran



umgeben (Fig. 3g, h). Die alte leere Zellmembran bleibt an dem neuen Gebilde hängen. Sie behält die ursprüngliche Form (Fig. 3g). Meist freilich fällt sie einfach zusammen. Die Anhängsel, die dann entstehen, haben eine verschiedene Gestalt, je nachdem die Einstülpung vor sich gegangen ist. Sie sind trichterförmig, oder strandkorbförmig, oder sie bilden einen Kamm. Die neuen Zellen haben annähernd die Größe der alten Zelle. Nicht selten beobachtet man aber eine Größenzunahme, ja sogar eine nachträgliche Zweiteilung des Plasmas, nachdem die Zelle in der einen Achse sich verlängert hatte. Damit ist auch die Riesenzellenbildung in diesen Kulturen erklärt. Diese sind rund und messen 11—17  $\mu$  im Durchmesser (Fig. 3k). Auch diese Pseudosporen treiben lange, oft unregelmäßig geformte Keimschläuche. An jeder beliebigen Stelle kann ein solcher Keim die alte Membran durchbrechen. Ich beobachtete bis zu 4 an der Zahl. Dann glich das ganze Gebilde vorübergehend einem Sproßmycelium. Die alte Membran kann abgestoßen werden. — Schließlich sei noch bemerkt, daß alte Sabouraud-Kulturen wieder frischen Flaum treiben können, ein Vorgang, der auf die oben geschilderte Bildung von Keimschläuchen zurückzuführen ist.

Die Widerstandskraft dieser Kulturen gegenüber Wärme und Salzsäure wurde experimentell festgestellt. Zu parallelen Kontrollversuchen wurden 8 Tage alte Gelatinekulturen (Bodensatz) verwendet.

Diese Versuche (gleiche Anordnung wie oben) zeitigten folgendes Ergebnis:

No.	Temp.	nach 24 St.		nach 48 St.		nach 72 St.		nach 96 St.		nach 120 St.	
		5 Min.	10 Min.	5 Min.	10 Min.	5 Min.	10 Min.	5 Min.	10 Min.	5 Min.	10 Min.
6	G 57°	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—
	S 57°	+	—	+	—	+	—	+	+	+	+
7	G 60°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S 60°	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
8	G 58°	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—
	S 58°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	G 62°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S 62°	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
11	G 63°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S 63°	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—
12	G 60°	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—
	S 60°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	G 60°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S 60°	—	—	+	—	+	—	+	—	+	—

G = Gelatinekultur, S = Sabouraud-Kultur.

Aus diesen Befunden geht deutlich hervor, daß die obere Abtötungsgrenze durch Wärme für die verschiedenen Stämme zwischen 57 und 63° C bei einer Einwirkungsdauer von 10 Minuten schwankt. Vgl. Gelatinekultur von No. 6 und Sabouraud-Kultur No. 11, 63° C. Außerdem ist aus der Tabelle zu entnehmen, daß das Sabouraud-Kulturenmaterial bei der Mehrzahl der Stämme gegen Wärmeeinwirkung etwas resistenter ist. In der Widerstandskraft des Pilzes bei Züchtung auf H Cl-Würze konnte ich zwischen Gelatine- und Sabouraud-Kulturen keine wesentlichen Unterschiede feststellen.

Diese geringgradigen Unterschiede der Stämme im Verhalten verschiedener Zuchten gegenüber Wärme brauchen nun nicht notwendigerweise auf das Vorkommen der auf Tafel 2 beschriebenen Gebilde zurück-

geführt zu werden, vielmehr bin ich geneigt, dieselben einer erhöhten vitalen Energie der wohlgenährten Sabouraud-Kulturen gegenüber den hungernden Gelatinekulturen zu suchen. Daher darf man diese cytoplasmatischen Vorgänge der genannten Tafel 2 nicht als Sporenbildung ansehen, sondern nur als besondere vegetative Vorgänge, z. B. als Zellhäutung, vielleicht auch als eine unvollkommene Dauerformbildung.

**Systematik des Pilzes.** Dem morphologischen und kulturellen Verhalten des Pilzes nach, handelt es sich um einen asporogenen Hyphomyceten. Diese bilden eine Gruppe der Fungi imperfecti. Die weiteren Eigenschaften des Pilzes decken sich völlig mit denen von *Oidium*. Das typische, gefächerte, verzweigte Mycelium, das in Oidien zerfällt und auf kurzen Trägern Conidien abschnürt, der in künstlichen Zuchten stets auftretende weiße Pelz, die Bildung von proteolytischen Enzymen mit Verflüssigung der Gelatine, die Oxydation der Milch- und Weinsäure, nicht zuletzt das nachgewiesene enzymatische Verhalten gegenüber einigen Sacchariden sind alles Eigenschaften, die für ein *Oidium* sprechen. Mit *Oidium lactis* hat der Pilz morphologisch wenig Ähnlichkeit. Zudem wird dieser in neuerer Zeit in der systematischen Mykologie unter dem Namen *Oospora* den Basidiomyceten zugeteilt. Der Pilz unterscheidet sich von *Oidium lactis* durch die Conidien, welche meist rund sind, und die Oidien, die fast regelmäßig tonnenförmig erscheinen, während bei *Oidium lactis* beide würfelförmig sind. Durchwachsungen oder innere Conidienbildung, die bei dieser Art gewöhnlich sind, fehlen bei *Oidium suis*. Ebenso ist die Gärkraft des Schweine-*Oidiums* gegenüber der bei *Oidium lactis* stark ausgeprägten Eigenschaft dieser Art sehr gering.

Die Fungi imperfecti sind in der Natur sehr verbreitete Organismen, die noch wenig erforscht sind. Sie bilden nur eine vorläufige Klasse in dem System der Pilze, weil man noch keine Entwicklungsform bei ihnen fand, die ihre Einreihung in das natürliche System gestattet. Sie sollen nach einigen Autoren sogar nur besondere Entwicklungsformen höherer, vielleicht sehr gewöhnlicher Pilze darstellen. Grimm hat für die Oidien auf Grund morphologischer und physiologischer Unterschiede, Aussehen der Kolonien in Größe und Form der Conidien, Peptonisierungsvermögen mehrere Arten aufgestellt. — Eine genaue Unterscheidung der einzelnen Pilze ist der großen morphologischen Ähnlichkeiten wegen schwer, ferner ist aus den vorhandenen, mangelhaften Beschreibungen die Identität mit schon bekannten Arten selten klar zu entnehmen. Es war mir nicht möglich, *Oidium suis* mit einer der in der Literatur beschriebenen Art in Übereinstimmung zu bringen.

Die kurz gefaßte Diagnose dieses Organismus würde folgendermaßen lauten: Hyphen gefächert, verästelt. Kettenförmige Conidienbildung. Zerfall des Myceliums in Oidien. Conidien kugelig, Oidien tonnenförmig. Auf Agar-Agar schräg üppig wachsender, weißer, unbeständiger Pelzrasen. Auf Gelatine Rückseite der Kolonien mit langem Wurzelwerk im Boden. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Die Gegenwart von Zucker, Milch- oder Weinsäure beschleunigt das Wachstum. Auf Glukoseagar wird Säure gebildet. Milch und Weinsäure werden oxydiert. Gärvermögen gering. Temperaturoptimum 30°. Untere Wachstumsgrenze 13—14°. Obere Grenze 41°. Abtötungstemperatur 57—63° innerhalb 10 Minuten, streng aërob.

**Tierversuche mit *Oidium suis*:** Auf die rasierte, desinfizierte und skarifizierte Haut eines Ferkels wurde Material aus Reinkulturen eingerieben. Diese Art der Inokulation hatte für die Gesundheit des Tieres keine nachteiligen Folgen. Verfütterung in größeren Mengen beim gleichen Versuchstier störte das Befinden nicht. Eine Injektion von 5 ccm einer Pilzaufschwemmung in isotonischer Kochsalzlösung in die Ohrvene blieb ebenso wirkungslos. Geimpft wurde noch ein Meerschweinchen mit  $\frac{1}{2}$  ccm obigen Materials in die V. saphena, ein anderes mit 1 ccm intraperitoneal, und ein Kaninchen bekam 1 ccm in die Ohrvene, ohne irgendwelche Gesundheitsstörung darauf gezeigt zu haben, deshalb wurden die letzten 3 Versuchstiere nach 14 Tagen getötet. Die Sektion ergab nichts besonderes.

2. Die Besprechung von *Trichophyton faviforme discoides* erfolgt getrennt am Schlusse, da es die einzig pathogene Art ist.

### 3. *Monilia vituli* (n. sp.).

Wie früher erwähnt, fand ich diesen Organismus, nebst einer roten *Torula*, in der Nase eines Kalbes, das an Diphtheritis litt.

Diese *Monilia* zeichnet sich durch einen starken Polymorphismus in ihrem kulturellen und morphologischen Verhalten aus. Junge Kolonien in Platten sind rund, tropfenförmig; ihr Mittelpunkt ist erhöht. Bald tritt eine radiäre Strahlenbildung an der Peripherie ein, die bei schwacher Vergrößerung eine echte Hyphenbildung darstellt. Die Fäden gehen vom Zentrum der Kolonie aus und überragen strahlig den Rand. In älteren Kolonien zeigt der Strahlenhof konzentrische Zonen. Die zentrale Partie der Kolonie nimmt eine schleimige Beschaffenheit an. Sie ist kuchenartig erhöht, und in der Mitte befindet sich eine leichte Einsenkung. Bleibt die Verschleimung aus, so wird der rein strahlige Charakter bewahrt. Luftmycel wird nicht gebildet. Junge Agarkulturen bilden wachsähnliche, krümelige, weiße Beläge mit warziger Oberfläche.

Da ich Verdacht hatte, daß es sich hier um verschiedene Organismen handle, wurden wiederholt Platten gegossen. Auch wenn Hyphen ausgesät wurden, traten immer auch verschleimende Kolonien auf, so daß es sich wirklich nur um eine Art handelte. Ein abwechslungsreiches Bild bietet diese Hefe unter dem Mikroskope. Von jungen Kolonien entnommenes Material besteht aus runden, ovalen und zitronenförmigen Zellen (Fig. 4 D), sowie aus langen Schlauchzellen (Fig. 4 E), von 4 bis 7  $\mu$  Breite und 4—15  $\mu$  Länge.

Die langen Zellen, die von gefächerten Hyphen herkommen, können sich auch nachträglich nach vorheriger Scheidewandbildung teilen. Mikroskopisch verhalten sich diese Zellen wie jene der anderen, von mir untersuchten Arten, und ebenso sind ihre Beziehungen zu den basischen Farbstoffen und Jod-Jodkalilösung. Dagegen färben sich Präparate aus alten verschleimten Kulturen schwer mit basischen Farbstoffen, und die Glykogenreaktion tritt nur schwach ein. Die Zellen haben hier meist eine ovale Form, seltener sind sie rund oder lang. Sie enthalten 1, 2 und mehr kreisrunde, bräunliche, stark lichtbrechende, bis zu 5  $\mu$  messende Körper, die fast den ganzen Zellraum ausfüllen (Fig. 4 D). In rundlichen Zellen trifft man oft viele kleinere, kugelige Körperchen von derselben Beschaffenheit an. Nicht selten sind sie von regelmäßiger Größe (2  $\mu$ ) und täuschen Ascussporen vor. Es handelt sich in allen diesen Fällen auch um Oelkörperchen. Der übrige Zellinhalt ist hell. An den Polen finden sich oft einige kleine dunkle Körperchen. Bei Färbungen mit

Hämatoxylin oder Magenta erweisen sich diese als runde oder auch sichelförmige Kerne (Fig. 2 2). Es sind hier keine Vakuolen vorhanden. Die Hefe verflüssigt die Gelatine rasch. Sie wächst zwar intensiver bei Gegenwart von Zucker, vermag aber nicht denselben zu vergären. Auf neutralem Glukoseagar wird wenig Säure gebildet!

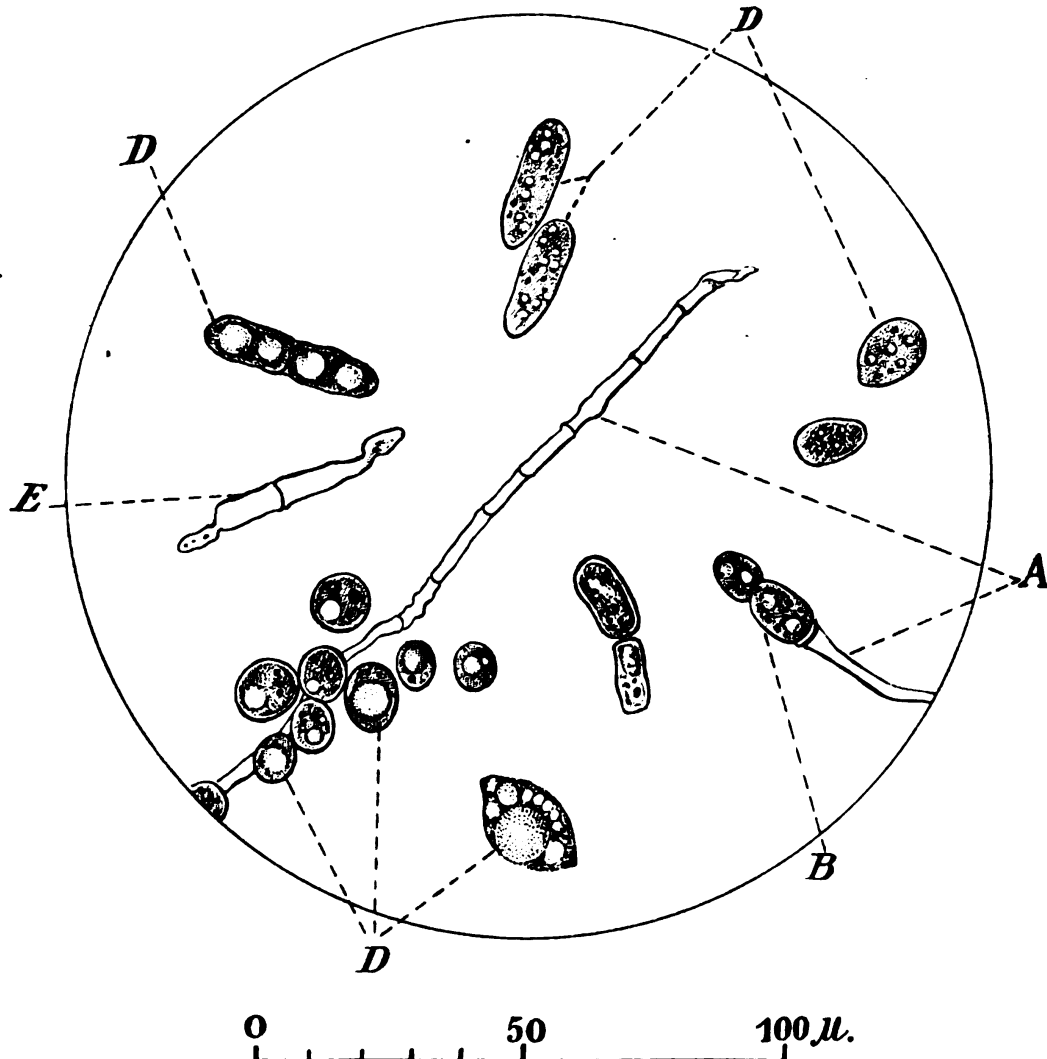


Fig. 4. *Monilia vituli*. Aeltere Kultur auf weinsaurem Glukoseagar. Wasserpräparat. A Hyphen, B Konidienabschnürung, D freie Hefenzellen, E Knospenbildung und Teilung.

In den Salzsäuremedien ging die Hefe innerhalb 9 Tagen zugrunde. Ebenso wurde sie in dem Milchsäureboden mit 2-proz. Säuregehalt vernichtet, und in 1-proz. Milchsäureboden war das Wachstum innerhalb 10 Tagen sehr gering. Die Milchsäure wird nur schwach angegriffen. In a war der Säuregrad des Bodens nach 12 Tagen nur in geringem Grade erniedrigt. Auch die Weinsäure tötet den Organismus bei 2-proz. Säuregehalt des Bodens. Dagegen wächst der Pilz ziemlich gut bei niedrigerem Säuregehalt. Er ist auch imstande, die Weinsäure in a und b innerhalb 12 Tagen ganz zu tilgen.

Das Wachstumsoptimum liegt um 25° C. Bei 37° findet kein Wachstum mehr statt. Eine Temperatur von 55° tötet den Pilz nicht innerhalb 10 Minuten. Bei diesem Versuche wuchs anfänglich nur die Mycelform.

Was die Systematik anbelangt, so ist die Zugehörigkeit dieses Pilzes zu den Monilien durch folgende Haupteigenschaften gegeben: Kolonien ähnlich den Hefenkolonien, Bildung von echten, gefächerten Hyphen, Zerfall derselben in die Einzelglieder, Sprossungserscheinungen mit Sproßmycelbildung, nicht zuletzt der Polymorphismus bei verschiedenem Alter der Kulturen, der bei echten Sproßpilzen nicht vorkommt. Mit den bis jetzt beschriebenen Arten der Gattung *Monilia* stimmt die untersuchte Form nicht überein, sie ist somit neu.

Tierversuche wurden mit diesem Pilze nicht vorgenommen.

#### Allgemeines über *Torula*.

Es wurden 10 *Torula*-Stämme isoliert (vgl. Tabelle p. 276). Ihre Haupteigenschaften lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Sie stellen echte Sproßpilze dar, deren Reinkulturen weiße, wachsartige Belege bilden. Die Oberfläche derselben ist glatt, manchmal auch mit tropfförmigen Erhebungen; unter gegebenen Umständen erscheint sie bei einigen mehlig. Sie verflüssigen die Gelatine nicht. Ihr Säurezerstörungsvermögen ist größer als die nachgewiesene Säurebildung. Auf Grund der beobachteten Sprossungserscheinungen lassen sie sich in 2 Hauptgruppen einreihen: *Torulaceen*, die echte Sproßmycelien bilden, deren Glieder langzylindrische Zellen mit abgerundeten Enden darstellen (Fig. 5), und solche, die in drusenartigen Sproßverbänden aus runden Elementen bestehen (Fig. 6). Erstere senken wurzelförmig in die Gelatine fädige Fortsätze. In der ersten Gruppe sind weiter auseinanderzuhalten die obergärenden, Kahmhaut bildenden Stämme *Torula suis* 1; von den untergärenden, vorzugsweise Bodensatz bildenden Formen *Torula suis* 2. Die zweite Hauptgruppe ist ebenfalls in 2 Untergruppen zu teilen, von denen die eine weiße, *Torula suis* 3, und die andere rote Kulturen bildet, *Torula vituli*.

#### 4. *Torula suis* 1 (n. sp.).

Charakterisiert durch eine rundliche, meist eirunde Form der Zellen (Fig. 4 III). Seltener sind sie länglich, mit abgerundeten Enden (Fig. 4 II). Maße: 3,5—9,5  $\mu$  Länge, 2,4—6  $\mu$  Breite.

In jungen Kulturen findet man sehr viele Sprossungserscheinungen, in älteren oft auch Sproßmycelbildung (Fig. 5 I). Dieses besteht meist aus zahlreichen Gliedern, deren Länge bis zu 20  $\mu$  betragen kann. Manchmal sind die Mycelzellen an dem einen Ende keulig angeschwollen. Nach dem Zerfall des Verbandes schwinden diese Anschwellungen. Diese Hefe bildet auch Riesenzellen, nämlich Zellen mit körnigem Inhalte, meist ohne Vakuolen, von runder, birnförmiger, sogar auch unregelmäßiger Form. Ihre Breite beträgt 7,5—11  $\mu$ . Die übrigen Zellen enthalten meist eine Vakuole mit einem 1  $\mu$  großen, stark lichtbrechenden Körperchen. Die langen Zellen besitzen oft deren mehrere. Das Zellplasma ist feinkörnig. Größere Fetttropfen wurden auch beobachtet. Durch Färben mit Thionin, nach vorheriger Fixation in der Flamme, kommen diese Verhältnisse weniger klar zum Vorschein. Die Vakuole läßt sich besser durch Eosinfärbung darstellen. Mit Gram färben sich die Zellen gleichmäßig intensiv blau. Die Glykogenreaktion ist positiv.

**Kulturen:** Auf Agar-Agar wachsen Kulturen in 24 Stunden zu dünnen, weißlichen, häutigen Belegen an. Die Kolonien haben große Ähnlichkeit mit jenen des *Bacterium coli commune*. Ihre Oberfläche ist mattglänzend, die gezackten Ränder sind meist scharf abgesetzt. Auf Gelatine bilden sich weiße, wachstartige Rasen mit ausgesprochenem Dickenwachstum und Bildung langer Wurzelfäden. Auf Sabouraud-

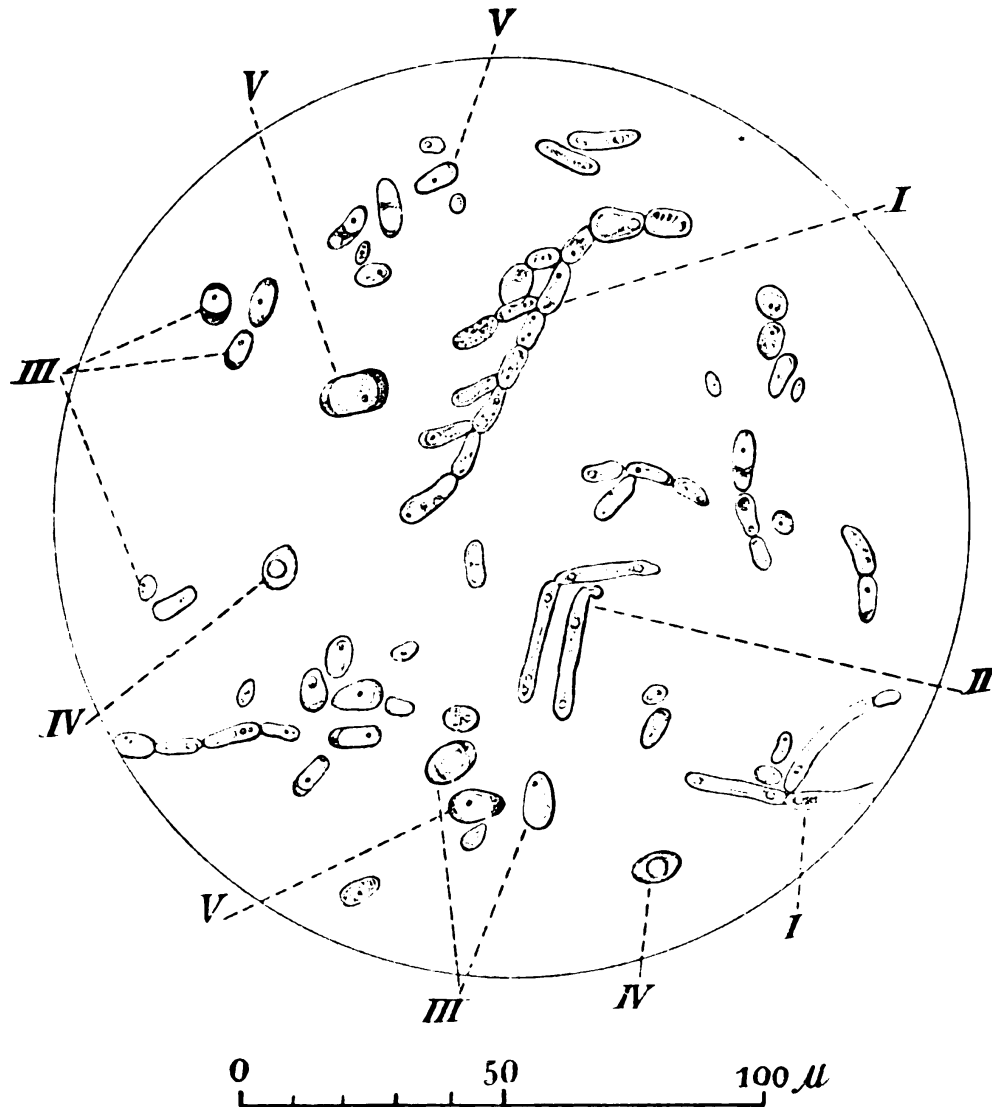


Fig. 5. *Torula suis* I. Weinsäure Traubenzuckeragarkultur. Wasserpräparat. I Sproßmycel. II Lange Zellen. III Ovoide Zellen. IV Hefen mit großen Oelkörperchen. V Zellen mit Vakuole und tanzendem Vakuolenkörperchen.

Boden ist das Wachstum sehr intensiv. Die Oberfläche erscheint mehlig, und am Rande der Kolonie sieht man feine, fadenähnliche Auswüchse, die man bei schwacher Vergrößerung als verzweigte, baumartige Sproßverbände erkennt. Den Kulturen entströmt ein angenehm aromatischer Geruch.

Die Beziehungen zur Wärme sind folgende: Das Wachstumsoptimum liegt um 37° C, die obere Wachstumsgrenze bei 42,5°. Der Pilz stirbt

19\*

bei 65° nach 6 Minuten ab. 60° erträgt er ohne Schaden während 10 Minuten und 70° während 2½ Minuten.

Auf Milchzuckeragar wächst er besser als auf gewöhnlichem Agar. Von den 3 benützten Böden (1-, 2-, 4-proz. = a, b, c) erwiesen sich die 1- und 2-proz. als die günstigeren Medien. Die Reaktion des Kondenswassers ging bald in die alkalische über, und zwar zuerst in a, wo die Alkaleszenz auch am ausgeprägtesten ist. In c reagiert der Boden zuerst längere Zeit hindurch neutral bei einem ganz geringen Wachstum der Hefe. Es wird hier keine Säure gebildet. Ganz anders ist das Verhalten der Hefen auf Traubenzuckeragar. Abgesehen von einer üppigeren Vegetation mit Kahmhautbildung über dem Kondenswasser und Bildung eines aufsteigenden Belages an der Gefäßwand, wird hier vorübergehend Säure gebildet. Je größer der Zuckergehalt des Bodens, um so ausgeprägter die Säurebildung und um so intensiver das Wachstum der Hefe. Es besteht somit zwischen diesen Befunden und jenen der Milchzuckerkulturen ein Gegensatz: Auf den Milchzuckerböden machen sich 2 Wirkungen geltend, eine Förderung des Wachstums bei geringgradigem Gehalt des Bodens an Milchzucker und eine Hemmung durch die auftretende alkalische Reaktion. Daher ist auf 4-proz. Nährboden das Wachstum ein langsames, ebenso auf 1-proz., hier wegen der rasch auftretenden Alkaleszenz. Am günstigsten sind die Verhältnisse bei 2-proz. Zuckergehalt, wo das Wachstum der Alkalibildung etwas vorseilt. In Traubenzuckernährböden wirkt die anfängliche Säurebildung entschieden fördernd auf die Entwicklung der Kolonien.

Gärversuche: In steriler Bierwürze bildet der Pilz eine typische Kahmhaut, wie die *Mycoderma*-Arten, mit winklig geordneter Faltenbildung. Die Oberfläche ist weißlich, mehlig. Von der unteren Seite lösen sich kleine Partikelchen ab, die die Flüssigkeit trüben und dann auf den Boden des Gefäßes fallen, wo sie einen schlammigen Satz bilden. Die Würze verändert weder ihre Farbe noch ihre Reaktion. Beim Schütteln der Kulturen läßt sich in den oberen Schichten Gasbildung feststellen. Dieser Umstand darf aber nicht als Gärung gedeutet werden. Meissner (5) hat für *Mycoderma* und hautbildende *Torula* nachgewiesen, daß die Luft, die infolge der fettigen Beschaffenheit der Zellwand in feiner Schicht an den Zellen haftet, das Schwimmen der Kahmhaut bedingt und beim Abbröckeln von Hautteilchen zuerst in die Tiefe mitgerissen, dann aber abgegeben wird. Auf Glukosebouillon ist das Wachstum ebenso gut wie auf Würze. Unter der Haut traten einige große Gasblasen auf. Auf Saccharosebouillon kommt es auch zur Hautbildung, auf Laktosebouillon ist dieselbe weniger gut ausgebildet. Um eine Gärung sicher nachzuweisen, wurden infizierte Würzeröhrchen mit Agar von 40° vorsichtig überschichtet und dann rasch abgekühlt. Unter diesem Pfropfen konnte eine mäßige Gasbildung festgestellt werden. Diese Gärung erklärt auch, warum die gebildeten Decken hier, im Gegensatz zu *Mycoderma*, recht unbeständige Gebilde sind. Es handelt sich um eine Obergärung.

Energischer als die Angriffskraft gegenüber Zucker und ihr Säurebildungsvermögen ist das Säuretilgungsvermögen und die Tenazität gegenüber Säuren. Von den von mir untersuchten Organismen waren es die einzigen Hefen, die in ¼-proz. Salzsäureboden deutliche Spuren von Wachstum zeigten. In den stärkeren Salzsäureböden waren sie nach 9 Tagen tot. Die Salzsäure wird nicht angegriffen. Auf den Milchsäureböden sind sie nach 24 Stunden überall gewachsen, am besten

in b und c. Schon jetzt war in c eine deutliche Abstumpfung der Acidität nachzuweisen. Nach 8 Tagen ist die Säure in a, b und c ganz verschwunden, nach 12 Tagen reagierten auch die 2-proz. Böden schwach alkalisch. — Auf Weinsäureböden ist die Hefe überall erst nach 5 Tagen gewachsen. Die Weinsäure wird auch nicht so energisch angegriffen wie die Milchsäure. Eine vollständige Säuretilgung war nur in dem  $\frac{1}{4}$ -proz. Boden nachzuweisen.

In anaëroben Kulturen findet eine ergiebige Gasbildung, beruhend auf Vergärung des im Sabouraud-Agar befindlichen Traubenzuckers, statt.

#### B. *Torula suis* 2 (n. sp.).

Die Kulturen dieser Hefe setzen sich aus ungleich großen, runden und länglichen Zellen, die 2–7  $\mu$  breit und bis 10  $\mu$  lang sind, zusammen. Sie zeigt somit große Aehnlichkeit mit Fig. 4. In älteren Kolonien sind Sproßmycelien in Form von fädigen Gebilden, bestehend aus langen Gliedern, zu finden. Riesenzellen wurden bei 3 Stämmen beobachtet. Die Zellmembran erscheint scharf und deutlich. Der Zellinhalt wird recht bald von einer Vakuole erheblich verdrängt. Er ist von feinschaumiger Struktur und enthält meist nur einen stark lichtbrechenden Oelkörper, dessen Größe mit dem Alter der Zelle bei Luftzutritt zu-, im Hungerzustand dann wieder abnimmt. Vakuoleneinschlüsse wurden nicht beobachtet.

Kulturen: Weinsaurer Glukoseagar erwies sich auch für diesen Organismus als sehr günstig, günstiger als Agar und Gelatine. Die Kolonien wachsen schnell längs dem Impfstriche, wachsartige, weiße Belege bildend, deren glatte, glänzende Oberfläche bald eben erscheint, bald kuppelartige Erhöhungen aufweist. Die seitliche Ausbreitung der Kolonien geschieht durch Bildung runder, tropfenförmiger Tochterkolonien, die mit der Stammkolonie verwachsen. Daher erscheint der Rand des Rasens gezähnt. Der in einigen Fällen deutlich beobachtete stufenartige Absatz desselben deutet auf ein Dickenwachstum des Belages hin. In den tropfenähnlichen Erhebungen auf dem Belage finden sich vorwiegend die Sproßmycelien vor. Im Kondenswasser entsteht ein weißer, schlammiger Niederschlag. Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf derselben treibt die Kolonie an der Unterseite pinselförmige Hyphenbüschel senkrecht in den Boden hinein. Vom Rande aus wachsen später auch verzweigte Sproßmycelien büschelartig horizontal in die Gelatine. Das ganze sieht einer kleinen Bürste sehr ähnlich. Den Kulturen entströmt ein angenehm aromatischer Geruch.

In biologischer Beziehung bestehen innerhalb dieser Species große Verschiedenheiten, so daß ich drei Varietäten zu unterscheiden veranlaßt bin:

1) Varietät a fand ich in vielen inneren Organen des Schweines. Das Temperaturoptimum für diese Hefe liegt bei ca. 37° C. Bei Zimmertemperatur wächst sie besser als bei 42° C. Die obere Wachstumsgrenze liegt bei 43° C, und der Pilz wird erst bei 60° C innerhalb mindestens 15 Minuten getötet; 10 Minuten genügen nicht. Eine Temperatur von 65° C tötet ihn mit Sicherheit innerhalb 6 Minuten.

Zu Kulturversuchen auf zuckerhaltigem Boden wurden die gleichen Nährmedien wie früher verwendet. Die Varietät a wächst besser auf Milchzucker als auf traubenzuckerhaltigem Boden. Auf ersterem sind bald deutliche Wachstumsunterschiede zu erkennen. Die 2-proz. Milchzuckerböden entsprechen den Vegetationsbedingungen dieser Hefe



besser als die 4-proz., diese besser als die 1-proz. Der aromatische Geruch der Kulturen geht in einen süßlichen Alkoholgeruch über. Im Kondenswasser ist neben einer Niederschlagsbildung auch Gasbildung sichtbar. Auf traubenzuckerhaltigem Boden ist die Entwicklung der Kolonien überall ungefähr gleich. Die Beläge bleiben aber im Wachstum zurück. Die Alkoholgärung ist auch hier ausgesprochen.

Sowohl die Kulturen auf Milchzucker wie auf Traubenzuckeragar bilden neben der flüchtigen Kohlensäure, die bei gewöhnlichem Luftdruck zu gleichen Teilen im Kondenzwasser resorbiert wird, noch eine andere, nicht flüchtige Säure. Dies geht aus dem abweichenden Verhalten der sauren Reaktion in den verschiedenen Kulturen hervor. Diese Säure wird dann, dank des Säuretilgungsvermögens des Pilzes, wieder oxydiert. Je mehr Zucker im Boden vorhanden ist, um so intensiver ist die Säurebildung, wie ich aus der Dauer und Intensität der sauren Reaktion nachweisen konnte. Die 4-proz. Böden reagierten 10 Tage lang sauer, während in den 1-proz. die alkalische Reaktion schon nach 2 bis 3 Tagen eingetreten war. Diese Reaktionsänderungen des Bodens haben einen unverkennbaren Einfluß auf das Wachstum des Pilzes. Sowohl die starke saure Reaktion in a, wie die alkalische Reaktion in c, die frühzeitig auftritt, sind Wachstumshindernisse, daher das bessere Wachstum auf 2-proz. Milchzuckerboden. Daß die Traubenzuckerkulturen sich nicht gleich verhalten im Wachstum, wie die Milchzuckerkulturen, spricht dafür, daß hier verschiedene Säuren gebildet wurden. — Auf 2-prom. ammoniakhaltigem Boden findet kein Wachstum statt.

Die Gärkraft des Pilzes ist eine ziemlich hohe. Er vergärt auch alle geprüften Zuckerarten, nämlich Maltose, Glukose, Saccharose, Laktose. Dabei bildet sich ein feinschlammiger Niederschlag und an der Oberfläche der Flüssigkeit ein feines Häutchen. In den meisten Kulturen tritt eine geringe Trübung der Flüssigkeit ein, die durch die Gasbildung bedingt ist. Es handelt sich hier um eine Untergärung.

Zuchtversuche auf sauren Böden mit  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$ , 1, 2 Proz. Säuregehalt, als a, b, c, d bezeichnet. Die Salzsäuremedien unterdrücken nicht nur jedes Wachstum, sondern der Pilz wird darin in 9 Tagen getötet. Bei Uebertragungsversuchen auf Sabouraud-Boden gingen Kulturen nicht mehr auf. Zuträglicher sind die Böden, die Milchsäure enthielten. Das beste Wachstum ist bei  $\frac{1}{4}$  Proz. Säuregehalt. Aber auch in b ist nach 24 Stunden eine beginnende Hautbildung zu erkennen. Nach 4 Tagen fangen auch in c die Kulturen zu wachsen an. In d war nach 8 Tagen noch nichts gewachsen. Das Material erwies sich jedoch als noch keimfähig. Der Pilz oxydiert die Säure des Nährbodens. Die Reaktion wird bald neutral, dann alkalisch, zuerst in jenen Fällen, wo der Säuregehalt am niedrigsten ist. Nach 8 Tagen ist die Säure in d vertilgt. Das Säuretilgungsvermögen ist der Milchsäure gegenüber ziemlich hoch. Ein ähnliches Verhalten zeigte sich auch bei den Kulturen auf Weinsäureböden. In c wächst der Pilz nur dürftig, in d gar nicht. Durch Ueberimpfung auf Sabouraud konnte er selbst noch nach 10 Tagen zum Wachstum gebracht werden. In derselben Frist war die Weinsäure nur in a ganz getilgt. Der Boden c blieb stark sauer. Auch die Essigsäure bot bei einem Gehalte von 3 pro mille in Agar der Hefe sehr günstige Vegetationsbedingungen dar.

Anaërobe Kulturen zeigten nach 7 Tagen einige kleine Kolonien nebst einer mäßigen Gasentwicklung im Innern des Agarzylinders.

2) Varietät b, gefunden in der Lunge eines Schweines, hat ein Temperaturoptimum von  $37^{\circ}\text{C}$ ; gegenüber höheren Temperaturen ist jedoch diese Hefe empfindlicher als die Var. a. Eine Temperatur von  $50^{\circ}$  wird zwar 20 Minuten lang ertragen,  $55^{\circ}$  Wärme tötet aber die Hefe innerhalb 10 Minuten und  $60^{\circ}$  in 5 Minuten ab.

Auf Milchzuckerboden wird keine Säure gebildet. Das Optimum bildet der Boden mit niedrigem Zuckergehalt. — Der Pilz wächst besser auf Traubenzucker- als auf Milchzuckerboden. Das Wachstum ist hier anfänglich ausgeprägter bei 1 Proz. Zuckergehalt. Nach 7 Tagen ist jedoch kein Unterschied mehr in der Entwicklung dieser Kulturen zu verzeichnen. Die Säuretilgung und Säurebildung der Hefe auf den Traubenzuckerböden ist analog wie bei der Var. a. Das Verhalten des Wachstums der Kolonien verrät jedoch eine geringere Resistenz diesem Stoffwechselprodukte gegenüber. Eine Gärung konnte in den Zuckerkulturen auf festem Boden nicht sicher nachgewiesen werden, wie auch nicht in offenen, zuckerhaltigen Lösungen. Im Saccharometer vergärt der Pilz etwas Saccharose und Maltose, Glukose nur in Spuren. — Die 2-proz. Weinsäure tötet diese Hefe innerhalb 10 Tagen. Ferner ist das Säuretilgungsvermögen derselben nicht so ausgeprägt wie bei Var. a, besonders der Milchsäure gegenüber, wo der Boden c sauer blieb. In anaëroben Kulturen ist das Wachstum nur gering.

3) Varietät c, aus der Milz einer Kuh und der Leber einer Krähe. Das Temperaturoptimum beträgt  $30^{\circ}\text{C}$ . Die obere Wachstumsgrenze liegt bei  $37^{\circ}\text{C}$ , und zwar entwickelt sich die Hefe unter diesen Verhältnissen nur noch in Würze, nicht auf Agar. Die obere Abtötungstemperatur beträgt  $60^{\circ}\text{C}$  bei 5 Minuten langer Einwirkungsdauer. Eine Temperatur von  $65^{\circ}\text{C}$  tötet sie innerhalb  $2\frac{1}{2}$  Minuten.

Die Gärkraft dieser Hefen ist im allgemeinen eine geringe. Vergoren wird langsam Maltose unter geringgradiger Entfärbung der Würze, ferner Saccharose und Glukose; Laktose nicht. Hier sind die Vegetationserscheinungen auch minimal. In diesen Medien wächst der Organismus, indem er einen leichten Hefenring, eventuell auch ein feines Oberflächenhäutchen und einen Bodensatz bildet. Die Gärung ist eine Untergärung, und, wie schon erwähnt, auch bei  $37^{\circ}\text{C}$  noch recht deutlich.

Auch diesen Hefen geht das Säurebildungsvermögen nicht ab. Dies wurde auf neutralem Sabouraud-Boden festgestellt. Nach 48 Stunden ist die Reaktion des Kondenswassers bereits sauer.

Auf Salzsäureboden wuchsen die Kulturen nicht. Mit Ausnahme derjenigen in a, waren nach 9 Tagen alle tot. Die Milchsäureböden sind ihnen zuträglicher. Nach 4 Tagen sind sie auf allen Böden gewachsen, am besten natürlich in a. Das Säuretilgungsvermögen der Hefe gegenüber Milchsäure ist sehr groß; nach 12 Tagen ist die Säure in d vollständig oxydiert, während die Reaktion in a schon nach 4 Tagen die alkalische ist. Die Weinsäure scheint auf das Wachstum der Hefen etwas weniger günstig einzuwirken als die Milchsäure. Die Kulturen in d wuchsen nicht, ohne jedoch bei 10 Tage dauernder Einwirkung der Säure den Pilz zu töten. Nach 10 Tagen war die Reaktion nur in a neutral bis schwach alkalisch geworden.

Anaërobe Kulturen wuchsen nach längerer Zeit bei Ueberschichtung des schrägen Agarbodens mit Paraff. liquid. in kleinen, runden Kolonien. In hochgeschichtetem Sabouraud-Agar war nach 6 Tagen makro-

skopisch kein Wachstum, dagegen mikroskopisch viele Sprossungserscheinungen festzustellen. Ferner trat hier eine rege Gasbildung ein.

*C. Torula suis* 3 (n. sp.).

Diese Organismen sind die kleinsten von mir gefundenen Hefen. Die Zellen sind rund und messen im Querschnitt 2—7  $\mu$  (Fig. 6 1).

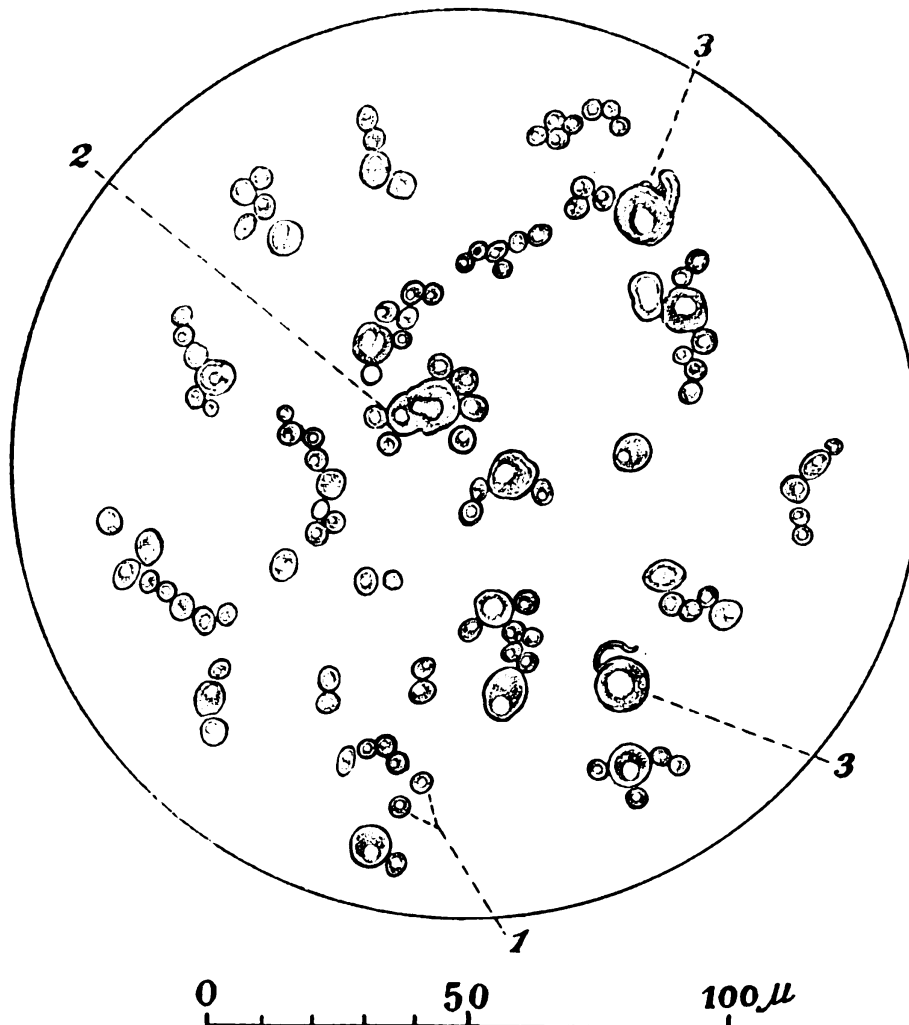


Fig. 6. *Torula suis* 3 var. a von einer weinsauren Glukosekultur. Wasserpräparat. 1 Hefezellen mit lichtbrechenden Oelkörperchen. 2 Sproßverband. 3 Häufung der Zellen.

In Präparaten trifft man öfters Sproßverbände von Kugelhefen an, besonders in jüngeren Kulturen (Fig. 6 2). Die Hefezellen besitzen meist eine zentral gelegene Vakuole mit einem stark lichtbrechenden Körperchen. Riesenzellen mit einem Durchmesser bis zu 12  $\mu$  wurden manchmal beobachtet. Das Zellplasma ist feinkörnig und enthält Fett in kleinen Tropfen, sowie auch Glykogen. Die Zellmembran wird mit Jod-Jodkalilösung ebenfalls gebräunt. Interessant ist auch hier die Tatsache, daß viele Zellen in älteren Kulturen die gleichen Anhängsel besitzen wie die auf Sabouraud-Boden gewachsenen *Oidium*-Zellen (Fig. 5 3). Auf Agar-Agar bilden diese Hefen weiße, wachsartige, glän-

zende Kolonien. Das Breitenwachstum geschieht auch hier durch Bildung neuer tropfenförmiger Tochterkolonien. Auf Gelatine ist die Entwicklung dürftiger. Ein Wurzelwerk fehlt und die strauchförmigen Gebilde im Boden beruhen auf kristalloiden Veränderungen desselben. Auf traubenzuckerhaltigem Boden, speziell auf Sabouraud-Agar, findet ein intensives Dickenwachstum statt. Die Kulturen verbreiten einen angenehm aromatischen, sauerteigähnlichen Geruch.

Ich unterscheide auf Grund der Wärmebedürfnisse 2 Varietäten.

1) Varietät a, gefunden in der Lunge des Kalbes und in der Niere des Schweines. Der Pilz gedeiht am besten bei 30° C. Die obere Wachstumsgrenze ist etwas höher als 37° C. Hier zeigen sich noch Spuren von Wachstum. Die Hefen werden nicht getötet bei 10 Minuten langer Erwärmung auf 50° C, wohl aber bei 55° C innerhalb dieser Zeitdauer.

Kulturen auf zuckerhaltigen Böden: Von den Milchsuckerböden bevorzugt der Pilz jene mit niedrigem Zuckergehalt, auf denen das Wachstum besser ist als auf zuckerlosem Agar-Agar. Die Reaktion des Bodens geht bald von der neutralen in die alkalische über, und zwar setzt diese in 1-proz. Zuckerboden schneller und intensiver ein. Nach 4 Tagen reagieren die Böden in allen 3 Fällen alkalisch. Ausgeprägter und von längerer Dauer ist das Wachstum auf Traubenzucker-Böden. Hier ist die Wachstumsintensität anfänglich höher bei 1 Proz. Zuckergehalt. Bald aber bleiben diese Kulturen in der Entwicklung zurück, und in 3 Tagen werden sie von jenen auf 4-proz. Zuckerböden überflügelt. Berücksichtigt man die Säurebildung dieses Pilzes bei Anwesenheit von Glukose, so läßt sich diese Erscheinung durch den Umstand erklären, daß die Acidität des Bodens für diesen Organismus in ausgesprochener Weise bessere Vegetationsbedingungen schafft. Die Säurebildung auf 4-proz. Boden ist schon nach 48 Stunden nachzuweisen, bei 2 Proz. Zuckergehalt erst nach 3 Tagen und in a wird keine Säure gebildet. Mit dem Grade des Zuckergehaltes steigt auch die Menge der gebildeten Säure, und die Dauer der sauren Reaktion des Bodens ist entsprechend länger. Die 4-proz. Zuckerböden reagieren nach 14 Tagen schwach alkalisch, während in 2-proz. Böden die gebildete Säure in einigen Tagen oxydiert wird (s. Tab. p. 299).

In flüssigen Zuckerlösungen und Bierwürze bildet die Hefe an der Gefäßwand einen schmutzigen Hefenring nebst einer leichten Trübung der Oberfläche. Ferner ist immer mehr oder weniger ein schlammiger Niederschlag vorhanden; hin und wieder verursacht der Organismus eine Trübung der Flüssigkeit. Die besten Wachstumsbedingungen sind in der Würze gegeben, dann folgen Saccharose und Glukose; in Laktosebouillon ist das Wachstum nur dürftig. In diesen Kulturen wurde nirgends Gärung nachgewiesen. Im Saccharometer und bei Gärversuchen nach der Methode von Prof. Burri ebenfalls nicht.

Säurekulturen. In den HCl-Böden sind diese Hefen nicht gewachsen. Nach 9 Tagen waren die c- und die d-Proben tot, während die a- und b-Zuchten beim Umimpfen auf Sabouraud noch aufgingen. Die Widerstandskraft gegenüber der Salzsäure ist bei diesen Hefen am größten. Auf den Milchsäureböden wuchsen die Stämme innerhalb 24 Stunden in a und b. Nach 48 Stunden zeigten sich Anfänge einer Vegetation auch in c, und nach 8 Tagen waren die Hefen in allen 4 Fällen deutlich gewachsen. Das Säuretilgungsvermögen ist nicht sehr ausgeprägt, nach 8 Tagen war die Säure in 1/4-proz. Boden getilgt, nach

12 Tagen auch bei  $\frac{1}{2}$  Proz. Säuregehalt. In c und d war während dieser Zeit der Säuregrad nur etwas erniedrigt worden. In Weinsäurekulturen wuchs ein Stamm schon innerhalb 5 Tagen in allen 4 Fällen, in c und d als sehr feines Oberflächenhäutchen. Der andere Stamm wuchs auch innerhalb 10 Tagen in d nicht, ohne jedoch von der Säure in seiner Keimfähigkeit beschädigt worden zu sein. In diesen Kulturen wurde die Säure nach 10 Tagen nur in a vollständig abgebaut.

Anaërobe Kulturen in hochgeschichtetem Sabouraud-Agar zeigten kein Wachstum.

2) Varietät b, gefunden in der Milz vom Schwein. Trotz der großen morphologischen Aehnlichkeit dieser Hefe mit der eben geschilderten bestehen hier in biologischer Beziehung auffallende Unterschiede. — Riesenzellenbildung wurde nicht beobachtet. Die Hefen sind aber etwas größer, ihr Durchmesser beträgt bis zu  $8\ \mu$ . Das Temperatur-optimum liegt um  $37^{\circ}\text{C}$ . Die Kolonien wachsen noch bei  $42^{\circ}\text{C}$ . Die obere Abtötungsgrenze beträgt  $55^{\circ}\text{C}$  bei einer Einwirkungs-dauer von 10 Minuten oder  $60^{\circ}\text{C}$  in 5 Minuten. Das Wachstum auf Laktose und Glukoseagar verhält sich genau wie bei Varietät a. Auch bei dieser Hefe wird bei Gegenwart von Milchzucker keine Säure gebildet. Auf Traubenzuckeragar dagegen tritt die saure Reaktion überall immer schon innerhalb 24 Stunden auf, am intensivsten war die Acidität in 4-proz. Zuckerboden. Hier braucht auch der Pilz längere Zeit, um die gebildete Säure zu oxydieren. — Eine Gärung wurde bei keiner der dargebotenen Zuckerarten beobachtet. — Die Salzsäureböden töteten die Hefe. In 2-proz. Milchsäureboden wächst sie nicht mehr, die Keimfähigkeit ging jedoch hier innerhalb 10 Tagen nicht verloren. Das Säureoxydationsvermögen ist hoch. Nach 8 Tagen reagiert der 1-proz. Boden neutral. Das Verhalten der Vegetation auf Weinsäureboden ist ähnlich, die Intensität des Wachstums aber geringer. Der 2-proz. Boden tötete den Pilz. Nach 10 Tagen war die Säure nur in a getilgt. — Das Verhalten gegenüber der Temperatur, die Säurebildung auf Traubenzuckeragar und das Wachstum auf Säureböden sind Eigenschaften, die diese Hefe von der Varietät a unterscheiden. Eigenschaften, die auffallend mit jenen von *Torula suis* 2 var. b übereinstimmen.

#### D. *Torula vituli* (n. sp.).

Gefunden in der Nase des Kalbes. Diese Hefe wächst auf Sabouraud-Boden in üppigen, korallenroten, glänzenden Belägen. Sie ist somit ein schönes Beispiel einer „Rosahefe“. Im Dunkeln gewachsene Kulturen haben eine blässere Farbe. In mikroskopischen Präparaten ist eine Pigmentbildung in den Zellen nicht zu beobachten. Die Farbe kommt überhaupt nur bei Anhäufung von vielen Zellen zum Vorschein. Der einzelne Organismus erscheint farblos. Die Hefen sind gewöhnlich von runder bis eirunder Form,  $3\text{--}7\ \mu$  breit und etwas länger. Vakuolen wurden nicht beobachtet. Dagegen enthalten die Zellen im feinkörnigen Protoplasma noch 2 größere, runde Oelkörperchen, die in den ovalen Zellen polständig geordnet sind. Gelatine wird nicht verflüssigt. Sproßmycelien und in den Boden gesenkte Fadenbildung kommen nicht vor.

In flüssigen, zuckerhaltigen Medien ist das Wachstum gering, am deutlichsten noch in Würze. Hier bildet die Hefe einen Ring und etwas Bodensatz mit Trübung der Flüssigkeit. In Glukose-, Saccharose- und Laktosebouillonlösungen ist eine Entwicklung nur in Spuren nachzu-

weisen. Der Pilz vergor die angewendeten Zuckerarten nicht. Auf Traubenzuckeragar bildet er ziemlich viel Säure.

In den Salzsäurekulturen gingen alle Keime zugrunde. Auf den Milchsäureböden wachsen Kulturen sichtlich nur in a. In b blieb ihre Vegetationsfähigkeit noch erhalten, während in c und d Kulturen beim Umimpfen nicht mehr aufgingen. Milchsäure wurde nicht angegriffen. Die  $\frac{1}{4}$ - und  $\frac{1}{2}$ -proz. Weinsäureböden wurden innerhalb 10 Tagen deutlich alkalisch, und die Hefe wuchs dürftig auch noch in c. Das Material in d war nach 10 Tagen noch lebenskräftig.

Das Wachstumsoptimum liegt um  $25^{\circ}$  C. Bei  $33^{\circ}$  C wurden noch Spuren von Kolonienbildung beobachtet. Eine Erwärmung auf  $50^{\circ}$  C während 10 Minuten tötete den Pilz. Anaërobe Kulturen gingen nicht auf.

**Veränderung der Reaktion in den Zuckerkulturen der Torulaceen.**

	Z	Milchzuckeragar			Traubenzuckeragar		
		1 %	2 %	4 %	1 %	2 %	4 %
Torula suis 1	1	AAA	AA	N	N	SS	SS
	2	AAA	AA	N	AAA	AA	N
	3	AAA	AA	N	AAAA	AAA	AA
	4	AAAA	AA	N	AAAA	AAA	AA
	5	AAAA	AAA	N	AAAA	AAA	AA
	6	AAAA	AAAA	N	AAAA	AAAA	AAA
	7	AAAA	AAAA	N	AAAA	AAAA	AAA
Torula suis 2 var. a	1	SS	SSS	SSSS	SS	SSS	SSSS
	2	S	SS	SSS	S	SS	SS
	3	S	S	SS	N	S	SS
	4	N	S	SS	A	S	SS
	5	N	S	SS	AA	N	SS
	6	AA	N	S	AAAA	N	S
	14	AAAA	AAAA	A	AAAA	AAAA	AAAA
Torula suis 2 var. b	1	N	N	N	S	SS	SSS
	2	AA	A	N	S	SS	SSS
	3	AAA	AA	N	N	S	SS
	4	AAAA	AA	A	AA	A	S
	5	AAAA	AAA	A	AAA	AA	N
	6	AAAA	AAAA	A	AAAA	AAA	AA
	7	AAAA	AAAA	A	AAAA	AAA	AA
Torula suis 3 var. a	1	N	N	N	N	N	N
	2	AA	A	N	N	N	S
	3	AAA	AA	N	N	S	SS
	4	AAAA	AAA	N	N	SS	SSS
	5	AAAA	AAA	A	N	SSS	SSS
	6	AAAA	AAAA	AA	N	S	SSSS
	14	—	—	—	AAAA	AAA	A
Torula suis 3 var. b	1	N	N	N	SS	SS	SS
	2	N	N	N	S	SS	SS
	3	AA	AA	A	A	S	SS
	4	AAA	AAA	A	AA	N	S
	5	AAA	AAA	A	AAA	A	N
	6	AAAA	AAA	A	AAAA	AA	A
	7	AAAA	AAA	A	AAAA	AA	A

Z = Zeit in Tagen

N = neutral

A = schwach alkalisch

AA = alkalisch

AAA = stark alkalisch

AAAA = sehr stark alkalisch

S = schwach sauer

SS = sauer

SSS = stark sauer

SSSS = sehr stark sauer

### Systematik.

Meine Stämme der *Torula*-Gruppe sind Sproßpilze, die weder echte Mycelien, noch Sporen bilden. Sie gehören daher unzweifelhaft zur Gattung *Torula* in der gewöhnlichen Umschreibung.

So bezeichnet Hansen (4) *Torula* als Sproßpilze, die weder Endosporen noch typische Schimmelvegetationen bilden, die sich einerseits von Saccharomyceten, andererseits von *Monilia* und anderen Hyphomyceten durch mehrere Merkmale wohl unterscheiden. Hansen rechnet zu den *Torulaceen* nur Arten mit mehr oder weniger kugelförmigen Zellen. Einige bilden allerdings auch lange, wurstförmige Zellen in Hautvegetationen. Die *Mycoderma*-ähnlichen Sproßpilze ohne Sporenbildung und ohne Alkoholgärung schließt er aus. Während die von Pasteur untersuchten und beschriebenen *Torula* keine Gärung hervorrufen, geht diese Eigenschaft den von Hansen gefundenen Formen nie ab. In neuerer Zeit hat Will (10) nachgewiesen, daß es typische *Torulaceen* gibt, welche mit den gewöhnlich geprüften Zuckerarten keine alkoholische Gärung hervorzurufen vermögen. Die von Hansen aufgestellten diagnostischen Merkmale für *Torula* sind nach Will nicht ganz zutreffend, zu eng begrenzt. Genannter Forscher erweitert den Formenkreis der *Torulaceen* im Sinne Pasteurs. Es will sie nur auf Grund des negativen Merkmals, des Mangels an Sporenbildung, von den Saccharomyceten getrennt wissen. Im übrigen haben sie in physiologischer Beziehung mit den Saccharomyceten, wie auch mit den nicht sporenbildenden Gruppen, wie *Mycoderma*, sehr vieles gemeinsam. Will beschreibt Formen, welche unter bestimmten Kulturbedingungen sich fast ausschließlich mit kleinen, mehr oder weniger kugelförmigen, alle Merkmale der *Torulaceen* in sich vereinigenden Zellen vermehren und langgestreckte Zellindividuen nur in verhältnismäßig geringer Zahl erzeugen. Unter anderen Verhältnissen treten letztere in den Vordergrund und bilden damit den Uebergang zu solchen Arten, welche stets neben kugelförmigen und ovalen auch längliche Zellen und mycelartige Verbände von solchen erzeugen. Durch ihr Gärvermögen unterscheiden sie sich von *Mycoderma*-Arten. So gelangt Will zur Aufstellung zweier Gruppen für die Gattung: Gruppe I umfaßt Sproßpilze mit rundlichen oder ovalen Zellen ohne Sporenbildung mit oder ohne Alkoholgärung. Die II. Gruppe charakterisiert sich durch Individuen gemischter, auseinander hervorgehender Zellformen, die sich von *Mycodermen* durch ihr Gärungsvermögen unterscheiden. — Nach diesen Gesichtspunkten hin würden *Torula suis* 3 und *Torula vituli* zur I. Gruppe gehören, *Torula suis* 1 und 2 zur II. Gruppe.

Einige Momente aus dem physiologischen Verhalten der von mir untersuchten *Torulaceen*, die im Widerspruch stehen zu den Ergebnissen der Will'schen Angaben, seien noch an dieser Stelle angeführt: Die Will'schen *Torula*-Arten entwickeln sich in Milch gut und rufen dabei einen käsigen Geruch hervor. In einzelnen Fällen wurde die Milch koaguliert. Ich fand einzig bei *Torula suis* 2 var. a nebst Gasbildung und alkoholischem Geruch eine teilweise Gerinnung der Milch. Alle übrigen entwickelten sich schlecht in Milch, diese wird nicht verändert. Im Gegensatz zu der Angabe, wonach die alkalische Reaktion einzelnen Arten noch zuträglich ist, und daß die Meissnerschen Schleimhefen in alkalisch reagierendem Liebig'schen Fleischextrakt mit Zucker ebenso schnell wie in Traubensaft sich entwickeln, wirkte nach meinen Befunden

die alkalische Reaktion des Substrates direkt hemmend auf das Wachstum. Auf ammoniakhaltigem Sabouraud-Boden (2-prom.  $\text{NH}_3$ ) wuchs kein einziger Stamm, während Will bei Ammoniakzusatz eine üppige Vermehrung der Organismen beobachtet hat. Die Gelatine wird von keinem von mir geprüften *Torula*-Stamm verflüssigt. Nach Will sind alle *Torulaceen*, soweit bekannt, sauerstoffbedürftig. Das Luftbedürfnis geht jedoch nicht so weit, daß sie nur bei direkter Berührung mit der Luft leben können; sie gedeihen auch in ziemlich hohen Flüssigkeitsschichten. Die von mir gefundenen *Torula* sind wirklich zum Teil anaërob, denn sie bewirken eine Gärung in anaëroben Kulturen bei Anwesenheit von Zucker. Andere Arten sind dagegen ausschließlich aërobisch. Endlich sei auch hervorgehoben, daß, entgegen den Angaben von Will und Guilliermond (3), alle von mir untersuchten *Torulaceen* einen Zellkern besitzen (Fig. 2), der durch Hämatoxylin- oder Magentaefärbung nach dem früher angegebenen Rezept gut darzustellen ist. Der Zellkern ist rund und mittelständig oder sichelförmig und endständig. Oft sind auch hier mehrere Kerne vorhanden, die meist wandständig sind (Kernteilung vor der Zellsprossung). *Torula vituli* ist ebenfalls eine *Torula*. Ueber die „Rosahefen“ findet man in der Literatur noch wenig gründliche Untersuchungen. Verschiedene Forscher beschreiben rote Hefen, darunter auch solche, die von Medizinern als pathogen angesehen werden (Demme, Casagrandi).

Tierversuche mit *Torula*. Ich impfte Meerschweinchen intraperitoneal und subkutan, Kaninchen und ein Schwein intravenös. Nur mit *Torula vituli* wurde kein Versuch durchgeführt.

Die kleinen Versuchstiere wurden 10–20 Tage nach der Impfung getötet und sezirt. Es zeigte sich, daß sie völlig normal waren. Das Schwein wurde bei vollständig erhaltener Gesundheit 18 Tage nach der intravenösen Verimpfung einer Mischung der verschiedenen *Torula*-Arten geschlachtet. Auch hier wurden keine Organveränderungen bei der Sektion festgestellt. Die Lymphdrüsen waren von normaler Beschaffenheit. Sofort nach der Schlachtung wurden der Lunge, Leber, Milz und Niere Materialproben vorsichtig unter Vermeidung von Kontaktinfektion entnommen und auf Agar ausgesät. Bald stellte sich in allen Kulturen Wachstum von Hefenkolonien ein. Dieser Befund beweist, daß der Injektionsstoff sich längere Zeit im Körper lebenskräftig erhalten kann, was sich ja eigentlich schon aus den Sektionsberichten ergab. Eine lokale Vermehrung der Pilze mit Abszeßbildung habe ich nie beobachtet.

Bedeutung für den tierischen Organismus. Die von mir isolierten und untersuchten *Torulaceen* und das *Oidium suis* sind somit nichts anderes als harmlose Parasiten. Diese in der Natur als Saprophyten stark verbreiteten Fungi imperfecti gelangen auch auf die Körperoberfläche, in den Darm und Respirationstraktus. Sie passen sich den neuen Bedingungen an und können so zum Parasitismus übergehen. Sie bilden kein Toxin und verursachen keine pathologisch-histologischen Veränderungen. Ein Versuch mit einer Krähe zeigte, daß entwicklungsfähige Fungi imperfecti auch in den lebenden Organen dieses Wirtes sich vorfinden. Als Invasionspforte bezeichne ich die Lunge. Beim Durchgang durch den Magen werden die meisten, vielleicht alle, Keime vernichtet. Dies geht aus den Kulturversuchen auf Salzsäureböden deutlich hervor.



Uebersicht der Arten. Der Schlüssel zur Bestimmung der untersuchten Arten gestaltet sich, wie folgt:

**I. Fadenförmige Anordnung der Zellen. Abschnürung von Konidien. Zerfall der Fäden in Oidien. Verflüssigung der Gelatine. Oxydation der Milch- und Weinsäure.**

**A. Kulturen bilden dicke, weiße Pelze** = *Oidium*.

1. Temperaturoptimum 20°. Konidien rechteckig. Starkes Gärvermögen = *Oidium lactis*.

2. Temperaturoptimum 30°. Konidien meist rund, geringes Gärvermögen = *Oidium suis* n. sp.

**B. Kultur bildet kurzwellige, trockene Beläge.**

1. Dürftige Luftmycelbildung und Ausscheidung eines roten Farbstoffes an der unteren Seite der Kolonien

= *Trichophyton*.

**C. Kultur: Wachsartig weiße, glänzende Beläge, mit Fäden am Rande, ohne Luftmycelium.**

1. Bildung von echtem Mycel und Sproßmycel, keine Gärung, verzögerte Kahlhautbildung = *Monilia vituli* n. sp.

**II. Kettenförmige Verbindung der einzelnen Zellen. Sproßzellen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Keine Sporenbildung** = *Torula*.

**A. Lange Zellen. Sproßmycelien. In Gelatine wurzelförmige Fortsätze.**

1. Obergärend, Kahlhaut bildend = *Torula suis* 1 n. sp.

2. Untergärend, Bodensatz bildend = *Torula suis* 2 n. sp.

a) Starkes enzymatisches Vermögen. Säurebildung auf Milchzucker. Kolonien mit unebener Oberfläche. Temperaturoptimum 37° = var. a.

b) Schwaches enzymatisches Vermögen. Auf Milchzucker keine Säurebildung. Geringere Resistenz gegenüber Säuren und Wärme. Kolonien mit unebener Oberfläche. Temperaturoptimum 37° = var. b.

c) Schwaches enzymatisches Vermögen. Kolonienoberfläche eben. Temperaturoptimum 30° = var. c.

**B. Runde, kleine Zellen, kein Wurzelwerk in Gelatine.**

1. Weiße Kulturen = *Torula suis* 3 n. sp.

a) Temperaturoptimum 30° = var. a.

b) Temperaturoptimum 37° = var. b.

2. Rote Kultur, Temperaturoptimum 25° = *Torula vituli* n. sp.

Geschichtliches<sup>1)</sup>. Sproßpilze wurden, wie aus der Literatur hervorgeht, im tierischen Organismus schon oft gefunden und fast durchwegs als pathogen erklärt. Manche dieser pathogenen Organismen sind Phykomyceten oder Mykomyceten, viele aber gehören zu den Fungi imperfecti. Die pathogenen Sproßpilze oder Hefen werden als Blastomyceten bezeichnet. Diese nicht scharf begrenzte, große Pilzklasse der Mediziner ist ein Sammelname für alles, was sich sonst nirgends im natürlichen System unterbringen ließ. Mit Recht sagt de Beurmann, daß sich die Zahl der Blastomyceten mit dem Fortschritt unserer Kenntnisse immer mehr verringere.

Die Hefen werden mit Vorliebe von ihren Entdeckern auf Grund ihrer Aehnlichkeit mit den in der Gärtechnik wohlbekannten Hefen Saccharomyceten genannt. Die Bierhefe ist selbstverständlich ein echter

1) Nach Plaut, Handb. der pathog. Mikroorg. von Kolle u. Wassermann

**Saccharomycet.** Indessen ist für keinen einzigen dieser in Tieren schmarotzenden Saccharomyceten Sporenbildung mit Sicherheit nachgewiesen worden. Guilliermond (3) bezeichnet die parasitären Hefen daher folgerichtig als unechte Saccharomyceten oder zweifelhafte Hefen und vereinigt sie mit den Torulaceen. Trotzdem adoptiert er die von Vuillemin vorgeschlagene Bezeichnung „Cryptococcus“.

In der veterinär-medizinischen Literatur ist die Tokishigesche Hefe als Erreger der Lymphangoitis epizootica, des Farcin oder japanischen Wurmies beim Pferde wohlbekannt. Maffei und Sirleo haben sich ebenfalls mit einem tierpathogenen Blastomyceten, dem *Saccharomyces niger*, beschäftigt. Sanfelice hat unstreitig die meisten Arbeiten über die Pathogenität der Hefen veröffentlicht. Er isolierte aus einer krebsig entarteten Lymphdrüse eines an primärem Leberkrebs erkrankten Ochsen den *Saccharomyces lithogenes* (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895). Später aus einer pathologisch veränderten Schweinslunge den für Schweine pathogenen *Saccharomyces granulomatogenes*. Eine dritte Hefe, ebenfalls pathogen, züchtete er aus Organen einer pockenkranken Taube. Ferner hat Sanfelice wilde Hefen auf ihre Pathogenität untersucht, und dabei den *Saccharomyces neoformans* gefunden. Die Bedeutung dieser umfangreichen Untersuchungen liegt, wie der Autor selbst angibt, nicht in dem Nachweise pathogener Hefen, sondern, wie er meint, in der Feststellung der eigentümlichen Gestaltsveränderungen der Hefen im lebenden Gewebe. Viele als Coccidien erkannte Gebilde, die in Tumoren diagnostiziert wurden, dürften nach Sanfelice den parasitären Hefen zuzuteilen sein. Doch ist auch diese Ansicht nicht einwandfrei bewiesen. — Die Organe von Rind und Schwein, aus denen meine Hefen gezüchtet wurden, variierten im mikroskopischen Gewebearaufbau in keiner Weise diesen Parasitismus. In der Lunge bestand gewöhnlich eine Pneumonie mit nekrotischem Charakter und sehr großem Bakterienreichtum. Aber es handelte sich ja um Opfer der Schweineseuche, bei denen solche Pneumonien die Regel sind. In Leber, Milz und Niere waren meist keine Veränderungen sichtbar. Jedenfalls fehlten Zelleneinlagerungen, die an Hefen oder Coccidien erinnert hätten. In Strichpräparaten vermochte die Thioninfärbung, runde oder ovale und homogene Körper von  $10\mu$  in kleiner Zahl auszuzeichnen, die vereinzelte Hefezellen waren. Von den Bildern, wie sie Sanfelice für *Saccharomyces neoformans* u. a. m. beschreibt, war nie auch nur die leiseste Andeutung gegeben. Ferner hat L. Rabinowitsch (9) von ca. 50 untersuchten wilden Hefen 7 als tierpathogen gefunden. Dieser Autor hatte im Nachweise der Pathogenität somit mehr Glück als ich mit meinen 10 bestimmt parasitären Arten und Varietäten. — Von den in der humanmedizinischen Literatur beschriebenen pathogenen Sproßpilzen seien an dieser Stelle der *Saccharomyces Busse* und der von Curti gefundene *Saccharomyces subcutaneus tumefaciens* angeführt. Gilchrist zählt zu den Blastomyceten noch verschiedene Oidium-ähnliche Organismen, die krankheitserregend sind. Das größte Interesse beanspruchen die Blastomyceten noch immer als Erreger von Dermatomykosen [de Beurmann und Gougerot (2)]. Diese meist parasitierenden harmlosen Pilze spielen in der Aetiologie der bösartigen Tumoren wohl keine bedeutende Rolle.

## II. Ueber Trichophytie der Lunge beim Kalbe.

Beim Suchen nach Hefen in der Lunge gelang es mir, wie oben erwähnt, auch Trichophyton beim Kalbe in diesem Organe anzutreffen.

**Vorbericht.** In einer Anstalt bricht unter dem Kälberbestande eine Enzootie aus. Die Seuche ist bösartig, die meisten Kranken gehen zugrunde, wenige bleiben am Leben, fallen dann aber einem chronischen Siechtum anheim. Trotz guter Haltung und befriedigender Reinlichkeit, die durch den Umstand erleichtert wird, daß der Stallboden aus Zementguß besteht, bleibt die Enzootie in diesem Viehstande stationär. Sie pflegt seit einigen Jahren im Frühjahr, besonders bei Temperaturstürzen ihre Opfer zu fordern. Es werden gewöhnlich 1–4 Wochen alte Tiere ergriffen. Bei der Sektion zeigt sich stets das Bild einer Pneumonie, nur selten ist damit auch eine fibrinöse Pleuritis verbunden.

**Sektionsbericht.** Bei einem Tiere stellte ich eine hämorrhagische Endocarditis fest. Die Bronchialdrüsen sind geschwollen, blaß, die Lungen groß, gewöhnlich luftleer, stellenweise grau, trocken, abgestorben. Pleura glatt, bis auf die Stellen, unter denen ein nekrotischer Herd liegt. In den Bronchien feinblasiges Serum; die Leber ist geschwollen, blaß.

In den Lungensequestern viel gramnegative Stäbchen. In sauren, flüssigen Nährböden vermehren sich Trichophyton und Torula suis 3, var. a.

### Morphologie und Kultur des Trichophyton.

Mikroskopisch hat der Pilz, je nach den Nährböden, ein verschiedenes Aussehen. Flüssige Böden enthalten viele runde Hefenformen von 7  $\mu$  Durchmesser, mit scharfem Rande und großer Vakuole. Die Hyphen sind varikös, 3  $\mu$  breit, von Scheidewänden durchsetzt. Die Länge der Glieder schwankt zwischen 9–14  $\mu$ .

Die Lufthyphen auf festen Nährböden sind sparrig verzweigt, knotig, 3–8  $\mu$  dick, mit doppelt konturierter Wand. Es kommen rundliche Sporen von 3–8  $\mu$  Durchmesser und längliche Sporen von 4–5,5  $\mu$  und 8  $\mu$  Länge vor. Die Sporen haben eine doppelt konturierte Hülle, ein schwach körniges Protoplasma und 1, manchmal 2 glänzende, scharf begrenzte, 1  $\mu$  dicke Punkte.

Die Kultur auf Sabouraud-Agar ergibt manchmal einen zuerst bräunlichen, ein andermal weißen, dann hellgelben, kompakten, wachsähnlichen, dicken Belag von welliger Oberfläche, am Rande mit einem zarten Staub. Jenseits des Randes entstehen durch Verstäubung der Sporen zahlreiche, kleinste, zierliche Sterne. Der Pilz treibt keine Wurzeln in die Tiefe und ist daher leicht abzuheben. Der Nährboden wird rot verfärbt.

Auf Milchzuckeragar entwickelt der Pilz innerhalb 7 Tagen üppige, wachsartige, gelbliche Rasen. Dieselben heben sich von der Unterlage ab und bilden Falten, die wie Darmkonvolute gewunden sind. Die Oberfläche dieser Decken ist körnig, matt und bildet mit der Zeit einen sehr kurzen, spärlichen Flaum. Der Nährboden verfärbt sich intensiv rot.

Auf Milchsuckeragar ist die Entwicklung am besten bei 1 Proz. Zuckergehalt. Bei 2 und 4 Proz. sind nach 14 Tagen die Rasen so üppig wie bei 1 Proz. Die Reaktion des Nährmaterials geht von der neutralen bald in die alkalische über, am raschesten bei 1 Proz. Zuckergehalt. — Säurebildung findet nur in dem 4-proz. Milchsuckerboden statt.

Auf Traubenzuckeragar ist die Entwicklung nicht so rege wie bei Milchsuckerzusatz. Das Wachstum ist auch hier bei 1, 2, 4 Proz.

ungefähr gleich gut. Die alkalische Reaktion tritt viel später ein als in den Milchsäurekulturen. Säurebildung findet nicht statt.

Gelatine wird schnell verflüssigt, wobei zuerst eine gelbliche, dann eine braune schwache Färbung sich geltend macht.

Auf Milchsäureagar wächst der Pilz dürrig bei  $\frac{1}{4}$  und  $\frac{1}{2}$  Proz., wobei die Säure schnell abgebaut wird. 2-proz. Säure tötet den Organismen.

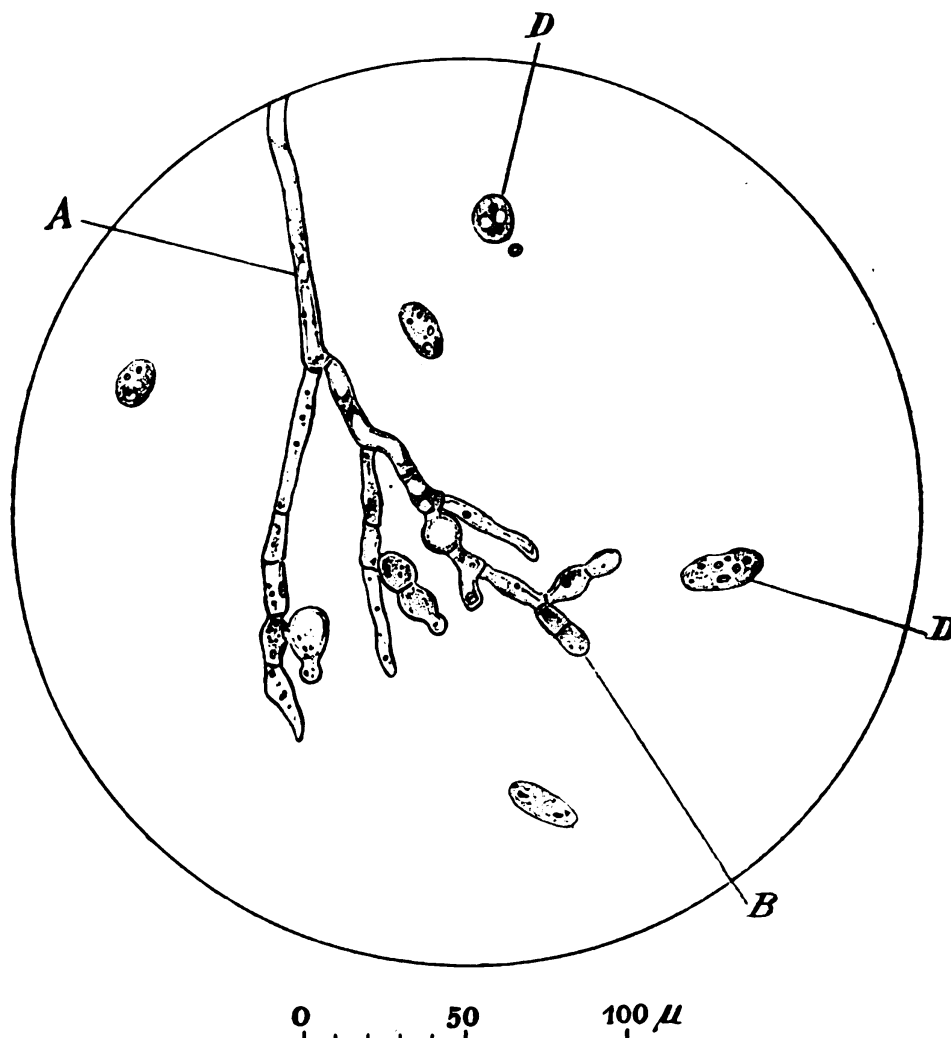


Fig. 7. *Trichophyton faviforme* von der Glaswand einer Traubenzuckerkultur. Wasserpräparat. A Hyphen. B beginnende Konidienabschnürung. D Sporen.

Auf Salzsäureagar findet gar kein Wachstum statt. Nur bei  $\frac{1}{4}$  Proz. Säuregehalt blieben die ausgesäten Keime bis zum 9. Tage am Leben. Bei höherem Säuregehalt war die Aussaat alsbald vernichtet.

Nach Weinsäurezusatz gestalten sich die Wachstumsverhältnisse wie bei Milchsäure. Der Pilz wächst nur bei  $\frac{1}{4}$  und  $\frac{1}{2}$  Proz. Gehalt. Die Säure wird bei  $\frac{1}{4}$  Proz. innerhalb 5 Tagen zerstört, bei  $\frac{1}{2}$  Proz. noch nicht ganz nach 10 Tagen.

In saccharosehaltigen Nährflüssigkeiten wächst der Pilz gut. Er bildet einen breiten Hefenring, hier und da auch starre Häute, die

leicht zerfallen und zu Boden sinken. Die Bierwürze und Traubenzuckerlösung bietet bessere Lebensbedingungen als Milch- und Rohrzucker. Der Pilz wächst auch ganz gut in eiweißhaltigen Lösungen, z. B. in konzentrierter Peptonlösung. Er bevorzugt eine Temperatur von 30° C. Bei Zimmerwärme und 42° ist das Wachstum ein nur dürftiges.

Bildung von Endosporen konnte nicht erzielt werden.

Ich denke, daß die Gesamtheit dieser Merkmale mit denjenigen von *Trichophyton faviforme discoides* (Sabouraud) übereinstimmt. Ueber Versuche weiter unten.

Pathologisch histologischer Befund. Es ist möglich und von Vorteil, die an der Kalbslunge festgestellten Zustände mit den gut studierten Veränderungen der Trichophytie der menschlichen Haut in nahe Verbindung zu bringen. Betreffend letztere folge ich den Angaben von Plaut (7).

Beim Menschen ist stets die Haut primär und das Haar erst sekundär verändert. Auf der Haut erfolgt Schuppenbildung, Leukocytose, seröse Durchtränkung des Gewebes. Die Schuppung ist die Folge einer Hyperproduktion von Epithelien in den tieferen Schichten (Hyperakanthose) und einem Stillstand in der letzten Umbildung der Hornschicht. Gewisse Zellen entgehen der Verhornung und behalten ihren Kern (Parakeratose).

In der Haut beobachtet man auch als tiefere Erkrankung das Granuloma trichophyticum. Es sind bohnen große Knoten, die weder Neigung zur Eiterung noch zur Resorption haben. Sie liegen unter dem Rete Malpighi, somit in der Cutis und sind scheinbar ohne Verbindung mit den Follikeln. Mehrere benachbarte Knoten können zu einer Scheibe gehäuft sein.

Das Granulom besteht aus Granulationsgewebe mit Riesenzellen und ist daher tuberkelähnlich. Es kommen in demselben vereinzelt Pilzelemente und auch Haare vor. Der Tumor ist ein sehr chronischer, der jahrelang andauert.

Das veränderte Lungengewebe des Kalbes ist luftleer. In mikroskopischen, mit Hämotoxylin gefärbten Schnitten erkennt man viele Herde von mehreren Millimetern Breite, die durch eine intensiv blau gefärbte, 0,2–0,8 mm dicke Demarkationslinie abgegrenzt werden. Die starke Färbung der letzteren beruht auf dem dicht gedrängten Vorkommen von kleinen, etwa 3,6  $\mu$  großen Leukocytenkernen, mit viel Kernfragmenten (Karyolysis), die durch große Verwandtschaft mit dem Farbstoff ausgezeichnet sind. Die Epithelien sind in doppelten und noch zahlreicheren Schichten vorhanden. 8  $\mu$  hoch, 6–8  $\mu$  breit, somit beinahe würfelförmig. Das Protoplasma ist glashell, nicht verhornt (Parakeratose). Die Kerne, wenn sichtbar, sind wandständig, 4  $\mu$  breit. In dem Lumen der Alveolen liegt ein Haufen Leukocyten mit einfachem Kern (5–6  $\mu$  breit) und sehr schmalem Protoplasmasaum. Zwischen den Epithelien kommen stets auch Rundzellen vor. Nur ausnahmsweise sind die Bilder so klar. In der Regel enthalten die Alveolen mehrere Schichten von Epithelien, die stellenweise amorph zerfallen sind, und dazwischen kommen viele Leukocyten vor. In diesen Fällen ist der Alveoleninhalt ein chaotisches Zellenmaterial mit nur geringer Affinität zu den Farbstoffen und im Begriffe, abzusterben.

Dieser Befund entspricht vollkommen der Trichophytie der menschlichen Haut. Die Herde, die in dieser Weise verändert sind, werden

durch ein gut ernährtes, festgefügtes Gewebe umrahmt, dessen weite Fächer das morsche Lungengewebe enthalten. Das Stützgewebe ent-

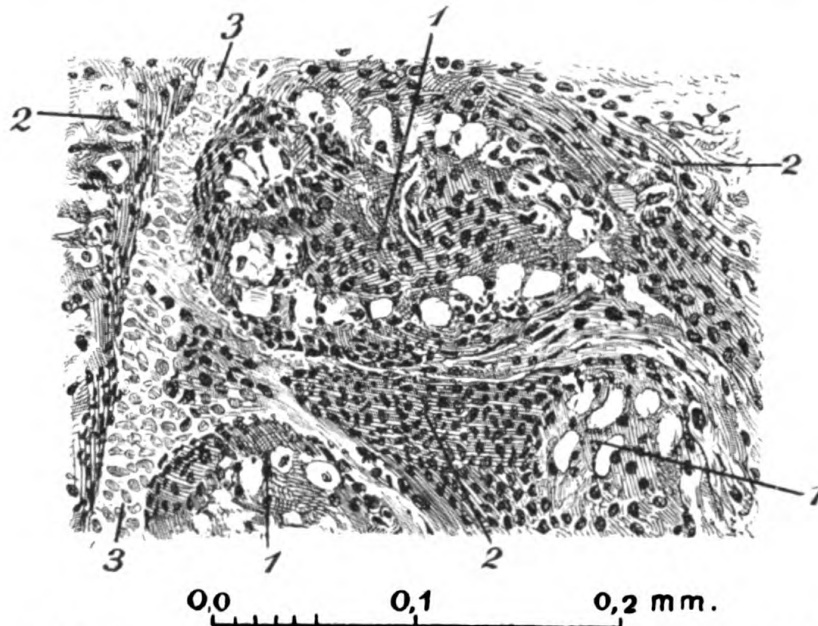


Fig. 8. Schnitt durch die Lunge des Kalbes. 1 Alveolen mit vergrößerten, hyalinen Epithelien und eingewanderten Leukocyten. 2 Granuloma trichophyticum. 3 erweiterte, gestaute Vene.

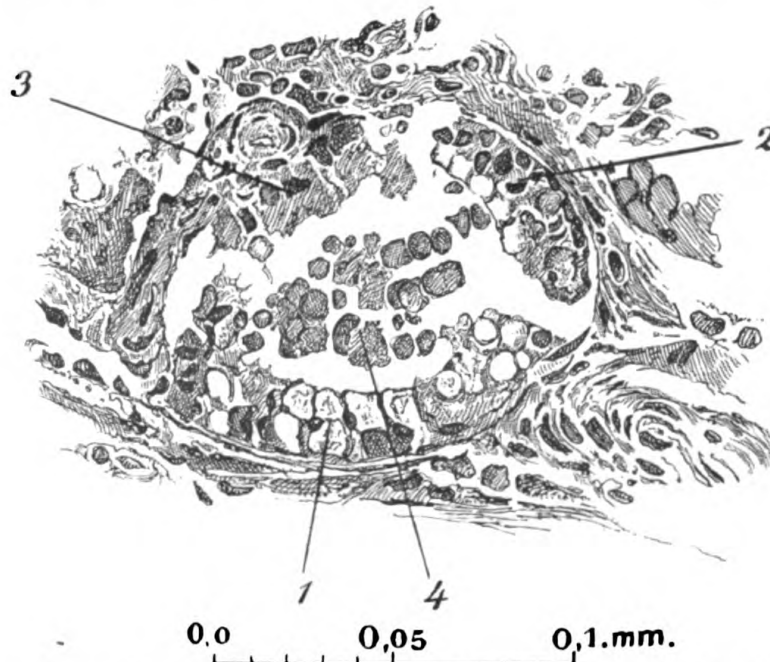


Fig. 9. Lungenalveole vom Kalbe bei Trichophytie. 1 Doppelte Epithelschicht. Einige Zellen mit Kernen, 2 und 3 Undeutliche Epithelreste. 4 Leukocyten.

spricht dem Granuloma trichophyticum der menschlichen Haut. Das Granulom der Kalbslunge weist noch deutlich auf die Herkunft aus dem Alveolargewebe hin. Die Scheidewände der früheren Alveolen sind

breit, mit spindelförmigen Kernen versehen. Von den Alveolen erkennt man noch die Umrisse, aber ihr Lumen ist mit Gewebe angefüllt. Neben einigen Resten von geblähten, nicht verhornten Epithelien kommt in reichlicher Menge rundzelliges, kernarmes Granulationsgewebe vor. Gelegentlich findet man in den früheren Alveolen homogene Fibringerinnsel von 10—160  $\mu$  Breite, die sich mit Hämatoxylin gut färben und das Walten eines fibrinoplastischen Fermentes verraten.

Das Granulom ist verhältnismäßig gefäßarm. Im dichten Alveolargewebe sah ich abwechselungsweise Hyperämie und Anämie.

Behandelt man einen Schnitt mit 50-proz. Antiformin, so sieht man einige wenige rundliche Pilzzellen. Im ungefärbten Schnitt sah ich den Pilz nicht und auch durch Färbung gelang mir sein Nachweis nicht. Wie schon erwähnt, war es möglich, den Parasiten aus der Lunge vermittelst Aussaat in Traubenzuckerbouillon mit einem kleinen Zusatz von Milchsäure zu gewinnen.

Impfversuche. Es wurden verschiedene Arten von Inokulation durchgeführt. Zunächst natürlich auf die Haut, dann durch die Trachea in die Lungen. Aber ich durfte nicht übersehen, daß sowohl die nahe verwandte Art *Achorion* wie auch *Trichophyton* bei Uebertragung in die inneren Organe Veränderungen zu veranlassen imstande ist.

Ich finde in der Literatur [siehe Plaut (8)] in der Tat die Angabe, daß die Einführung von Sporen des so nahe verwandten *Achorion* und des *Trichophyton* in die Venen und in die Bauchhöhle von Kaninchen Pseudotuberkulose zu veranlassen imstande ist. Die Einspritzung von *Oospora canina* (eine *Achorion*-Art) in die vordere Augenkammer des Kaninchens soll von einer tödlichen Favusinfektion der inneren Organe gefolgt sein. Es gibt übrigens auch spontan einen Intestinalfavus.

Auf eine besondere Fehlerquelle meiner Versuche muß ich besonders aufmerksam machen. Seit der Sektion des Kalbes bis zur Durchführung meiner Versuche war ein ganzes Jahr verstrichen, während welchem mein *Trichophyton* auf künstlichen Nährböden gezüchtet worden war. Äußerlich hatte er sich dabei in der Art verändert, daß die Kulturen an Ueppigkeit stark einbüßten, fast keine Haar- und Farbstoffbildung in den Nährböden mehr zeigten. Höchst wahrscheinlich litt dabei auch seine Virulenz merkbar, denn nur so kann ich mir die unerwarteten, zum Teil geradezu abnormen Impfergebnisse erklären.

Uebertragung auf die Haut. a) Beim Menschen. Ich infizierte mich bei der Arbeit zufällig am Arm. Es entstand ein hartnäckiger Herpes. Im entzündlichen Exsudat konnte der Pilz mit Leichtigkeit nachgewiesen werden. Ein anderes Mal wurde die Hand, mit der man ein Stück Kalbslunge längere Zeit festgehalten hatte, infiziert.

b) Beim Rind, Schwein, Kaninchen, Meerschweinchen. Die Versuche der Uebertragung auf die rasierte und leicht skarifizierte Haut schlugen fehl.

Intravenöse und intraperitoneale Uebertragung. Dieselbe blieb bei 2 Kaninchen und 3 Meerschweinchen ohne Folgen. Ich hatte die Tiere mehrere Wochen am Leben gelassen.

#### Lungeninfektion von der Trachea aus.

a) Beim Kalbe. Das 2 Wochen alte Tier erhält eine Einspritzung in die Trachea, bestehend aus nur kleinen Mengen Reinkultur von *Trichophyton* aufgeschwemmt in einigen Kubikzentimetern lauwarmer,

8-prom. Salzlösung. 3 Tage nach der Injektion tritt eine Störung des Allgemeinbefindens ein, mit allmählicher Temperatursteigerung bis auf 40,2, Vermehrung der Pulse und der Atemzüge. Dann wurde das Symptomenbild einer Bronchitis deutlich. Es trat ein schmerzhafter Husten und eitrig-schleimiger Nasenausfluß ein. Dieser enthielt neben vielen Eiterkörperchen auch runde *Trichophyton*-Zellen. Schon nach einigen Tagen besserte sich der Zustand und die Temperatur war wieder normal, dies ganz im Gegensatz zu spontanen Fällen, bei denen eine zunehmende Schwere der Störung die Regel ist. Der Husten blieb bestehen. Am 9. Tage wurde das Tier getötet.

Sektionsbefund. Pleura glatt und glänzend, Bronchialdrüsen vergrößert. Der rechte Spitzenlappen, die vorder Hälfte des rechten, mittleren Lappen, sowie ein Teil des Anhangslappens sind in großem Umfange derb, rotbraun, luftleer, eingesunken. Das Gebiet des veränderten Gewebes enthält viele kleine Inseln von normalem, lufthaltigem Gewebe. In den veränderten Gebieten erscheint die Schnittfläche fleckig, indem zahlreiche 3—4 mm breite, rote Flecken mit weißen Strichen abwechseln. Rot ist das Alveolargewebe, das sich im Zustande der Atelektase befindet. Die weißen Striche entsprechen den Bronchien. Letztere enthalten etwas Schleim. In den Zupfpräparaten der Lunge bemerkt man vereinzelte runde *Trichophyton*-Zellen. Aus dem Lungenmaterial können auf dem Wege der Kultur Kolonien von *Trichophyton*, ferner von einer weißen und einer roten *Torula* (*Torula suis* 3 und *T. vituli*) gewonnen werden.

#### Pathologisch-histologischer Befund.

In Schnitten bemerkt man unter dem Mikroskop eine erhebliche Verdickung der Bronchialwand, die stets ihren Epithelüberzug verloren hat. Die Verdickung besteht aus Granulationsgewebe, das auf die nächstliegenden Alveolen übergreift, deren Lumen vollständig mit Rundzellen angefüllt ist. Der Befund entspricht dem Granuloma trichophyticum. Epithelwucherungen fehlen.

Es liegt hier nicht eine einfache Fremdkörperbronchitis vor. Die Ausdehnung der Veränderung, im Vergleich zu der kleinen Menge des eingespritzten Materials spricht für eine infektiöse Bronchitis. Nur konnte mit der entarteten Pilzkultur eine schwere Erkrankung nicht mehr erzeugt werden.

#### b) Beim Kaninchen.

1. Einem Kaninchen wurde ebenfalls eine kleine Menge Reinkultur, aufgeschwemmt in lauwarmer, 8‰ Kochsalzlösung, in die Trachea gespritzt.

Es trat eine Störung des Allgemeinbefindens ein. Nach 8 Tagen wurde das Tier getötet.

Die Sektion ergab: Vergrößerte Bronchialdrüsen; normale Pleura. Lunge klein, lufthaltig, mit Ausnahme der rechten, vorderen und mittleren Lappen, in denen viele weiße, derbe, 1—2 mm breite Knötchen in rotes, lufthaltiges Lungengewebe eingelagert sind. In den Bronchien kein Sekret.

In der Wand der linken Kammer, speziell auch im Papillarmuskel, mehrere blasse, derbe Herde von 2—3 mm Breite.

Sonst nichts Besonderes.

In den Zupfpräparaten der Lungenknötchen hier und da eine *Trichophyton*-Spore, daneben Leukocyten und sehr große Rundzellen, die als



geblähte und aus der Verbindung gelöste Alveolenepithelien zu betrachten sind.

In Kulturversuchen mit Partikeln verschiedener Organe und speziell der Lungen blieb das Wachstum von *Trichophyton* aus.

#### Pathologisch-histologischer Befund.

Die Lungenknoten bestehen aus Granulationsgewebe, das die Alveolen anfüllt, während die Bronchien durch Leukocytenpfropfen verstopft sind. In dem dichten Lungengewebe kommen noch einige Alveolen mit Lumen vor. Ihre Wand trägt mehr wie eine Schicht großer, geblähter Epithelien, mit einem gut ausgebildeten Kerne. Einige dieser Zellen lösen sich aus der Umgebung ab. Es besteht somit Wucherung der Epithelien und Parakeratose.

In den Herden des Myocardiums fehlt die Querstreifung der Muskelfibrillen. Im Zupfpräparat des frischen Materials erscheinen die Fibrillen von vielen Fetttröpfchen durchsetzt. Die Muskelkerne zeigen nichts Besonderes. Leukocyten fehlen. Es handelt sich am Herzen um eine ganz frische Anämie.

2. Ein zweites Kaninchen wurde in derselben Weise wie das vorige infiziert. Das Tier zeigte keine Krankheitserscheinungen. Es wurde am 9. Tage getötet.

Sektionsbefund: Pleura glatt und glänzend. Der rechte, vordere Lappen klein, rotbraun, größtenteils luftleer. Bronchialdrüsen schwach vergrößert. In den Bronchien feinblasiges Serum. Das veränderte Lungengewebe zeigt dieselben Veränderungen wie beim ersten Kaninchen.

Im Zupfpräparat wenig *Trichophyton*-Sporen, viele Leukocyten und viele große, geblähte, aus der Verbindung gelöste Epithelien.

Der kulturelle Nachweis der Trichophyten mißlang. Dagegen wuchs die rote *Torula vituli* auf den Nährböden.

#### Pathologisch-histologische Veränderungen.

In den gefärbten Schnitten sind die Bronchien mit roten Blutkörperchen angefüllt. Der Epithelsaum ist uneben. Viele Zylinder-

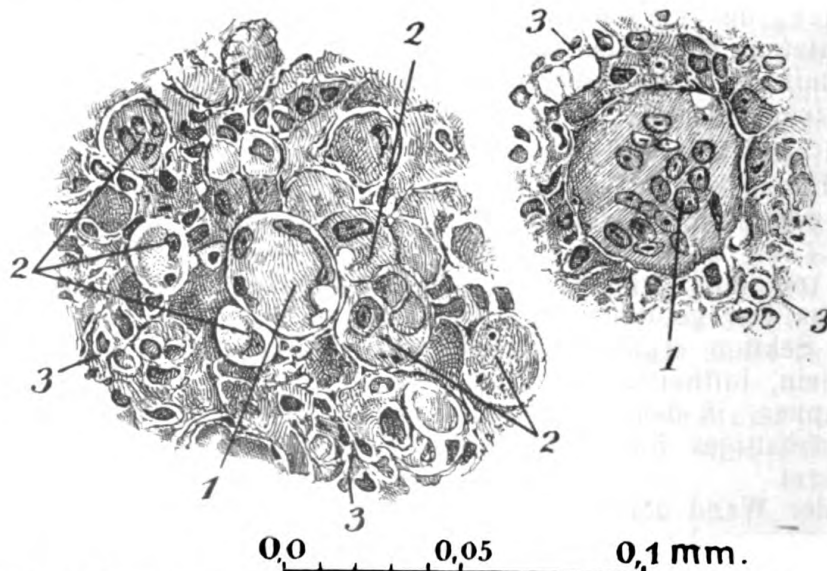


Fig. 10. Lungengewebe vom Kaninchen mit Trichophytie. 9. Tag des Versuches. 1 Riesenzellen. 2 Vergrößerte, geblähte Epithelien der Alveole. 3 Kleinzelliges Granulomgewebe.

epithelien sind bedeutend vergrößert; sie besitzen große, runde Kerne, und die Parakeratose ist deutlich. Im Lungengewebe sind die Blutgefäße weit und stark angefüllt. Die Struktur der Lunge ist durch ein rundzelliges Granulationsgewebe ganz verdeckt. Nur selten findet man noch erkennbare Reste von Alveolen, und dann sind sie in folgenden Zuständen vorhanden: a) Entweder nämlich als ein etwa 100  $\mu$  breiter Haufen großer, bläschenförmiger Epithelien von etwa 11  $\mu$  Breite, mit einem deutlichen Kern von 5  $\mu$  Durchmesser und Kernkörperchen. Diese Haufen gleichen sehr stark einer Drüse oder auch einem Krebszapfen. b) Oder die Mitte der Alveole wird von einer Riesenzelle von beispielsweise 27  $\mu$  auf 54  $\mu$  Breite mit 19 Kernen eingenommen, um die einige bläschenförmige Epithelien, wie sie in a) geschildert wurden, liegen.

Beide Befunde sind selbstverständlich Erscheinungen von pathologischer Epithelvermehrung und Parakeratose.

Es handelt sich in dieser Lunge somit um das Auftreten eines Granuloma trichophyticum.

Ein Rückblick auf meine Untersuchungen, betreffend *Trichophyton* ergibt, daß dieser Pilz in Wirklichkeit spontan und experimentell eine Wucherung der Alveolenepithelien und Parakeratose, sowie Bildung eines spezifischen Granuloms zu erzeugen imstande ist. Der Verlauf der Krankheit ist meist ungünstig.

Die Prophylaxis der Krankheit ist in der frühzeitigen Behandlung der Dermatoze bei allen Bewohnern des Stalles gegeben.

Vorliegende Arbeit wurde im Winter 1912/13 am veterinär-pathologischen Institut der Universität Bern unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Guillebeau ausgeführt. Es erübrigt mir, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer für die Anregung zu dieser Arbeit und für seine lebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung derselben meinen warmen Dank auszusprechen.

#### Literatur.

- 1) Burri u. Duggeli, M., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.
- 2) De Beurmann et Gougerot, H., Les Blastomycoses. Monogr.
- 3) Guilliermond, A., Les Levures. Monogr. 1912.
- 4) Hansen, Sur le Torula de M. Pasteur. (Compt. rend. des Trav. du Laborat. de Carlsberg. T. II. 1888.)
- 5) Meissner, Landw. Jahrb. Bd. 30. 1901. p. 497.
- 6) Plaut, Handb. d. path. Mikroorg. von Kolle u. Wassermann. 2. Aufl. 1912.
- 7) —, ebenda. p. 94.
- 8) —, ebenda. p. 74. 80.
- 9) Rabinowitsch, L., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 22. 1896.
- 10) Will, Handb. d. techn. Mykol. v. Lafar. Bd. 4. p. 280.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus im tierischen Organismus.

[Aus dem Nikolai-Marine-Hospital zu Kronstadt.]

Von Prosektor A. D. Woloschin.

Mit 1 Tafel.

Es besteht die paradoxe Meinung, daß die großen Entdeckungen von Koch die systematische Bearbeitung vieler Fragen in der Bakteriologie gehemmt haben, weil sie die späteren Forscher nach der praktischen Richtung hin abgelenkt hätten. Natürlich leidet diese Ansicht an Einseitigkeit. Nichtsdestoweniger kann man es nicht in Abrede stellen, daß man einigen Fragen der Mikrobiologie weniger Aufmerksamkeit entgegengebracht hat, als sie es verdienen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß sämtliche Veränderungen, denen viele pathogene Bakterien im tierischen Organismus anheimfallen, von großem Interesse sind. Professor Bail (3) hat als erster auf diese Bakterien die Bezeichnung der Tierbacillen angewendet und zugleich auf die stark ausgeprägten Unterscheidungsmerkmale derselben im Vergleich zu den Kulturbacillen hingewiesen. Solche Bacillen sind dicker, färben sich dunkler und sind meistens mit einer Kapsel versehen. Wenn auch der Unterschied zwischen den einen und den anderen Bacillen so bedeutend ist, daß man hier im ersten Augenblick an verschiedene Mikrobenarten zu denken geneigt ist, so bleibt doch das Wesen jener Unterscheidungsmerkmale unaufgeklärt.

Da das hauptsächlichste Unterscheidungsmerkmal der Tierbacillen die Kapsel ist, so ist die biologische Bedeutung derselben einer genauen und eingehenden Untersuchung wert. Gegenwärtig weist die Literatur bereits eine genügende Anzahl von Beobachtungen auf, aus denen hervorgeht, daß, abgesehen von den Kapselmikroben (*Diplococcus* von Fränkel, *Streptococcus mucosus*, *Micrococcus tetragenus*) viele andere pathogene Bakterien sich, sobald sie in den tierischen Organismus geraten sind, gleichfalls solche Kapseln zulegen. Tierbacillen mit Kapseln wurden bei Typhusbacillen [Eisenberg (9), Kühnemann (17)] und Pestbacillen [Löhlein (20), Zettnow (29)], beim *Vibrio* der asiatischen Cholera (Bail), sowie bei einigen pathogenen Sarcinen (Galli-Valerio) beobachtet. Am sorgfältigsten sind die Kapseln und Eigenschaften der Tierbacillen bei Milzbrandbakterien beschrieben, also bei demjenigen Prototypus, der zur Erforschung vieler Fragen in der Bakteriologie Anregung gegeben hat.

Die allgemein akzeptierte Ansicht, daß die Kapseln dazu dienen, um die Bakterien vor den ungünstigen Einflüssen seitens des tierischen Organismus zu schützen, wird von vielen Autoren bestritten. In der letzten Zeit wird die Ansicht von der Schutzrolle der Kapseln von Professor Preisz (27), Gruber und Futaki (12) vertreten. Der heftigste Gegner dieser Ansicht ist Fischöder (10), dessen aus dem Hygienischen Institut von Professor Pfeiffer hervorgegangene Arbeit sämtliche bei der Milzbrandaffektion zur Beobachtung gelangenden Erscheinungen einer strengen wissenschaftlichen Kritik unterzieht.

Bevor ich zu meinen Untersuchungen übergehe, glaube ich, die zeitgenössischen Erhebungen über diese Frage vorbringen zu müssen, da es an der Hand derselben nicht schwer ist, zu gewissen logischen Schlüssen zu gelangen, welche die Möglichkeit gewähren, der Bestimmung der biologischen Rolle der Kapseln näherzutreten.

Es besteht die überwiegende Ansicht [Babes (2), Kern (15), Zettnow u. a.], daß die Kapsel sich aus dem Ektoderma oder der peripherischen Schicht der Bakterie bildet und eine Wucherung bzw. Modifikation ihrer Hülle, folglich einen integrierenden Teil des Mikroorganismus darstellt, sich von der Kapsel nur quantitativ unterscheidend. Fischhoeder geht noch weiter und nimmt an, daß die Hülle, die in einigen Fällen stark aufgequellt und scharf ausgeprägt ist, einer besonderen Modifikation anheimfallen muß, um sich in eine Kapsel zu verwandeln. Eisenberg betrachtet die Kapsel als differenzierte, peripherische Schicht der Hülle, und ist auf Grund spezieller Färbungsmethoden zu dem Schlusse gelangt, daß die Entwicklung der letzteren zwei Stadien aufweist: das frühere, welches dem sogenannten Schwärmerstadium der höheren botanischen Arten entspricht, und das spätere, nämlich das Stadium der Sporenbildung. Das Ektoplasma ist im frühen Stadium säure- und gramfester als im späteren, was auf chemische, sowie physikalische Unterschiede zwischen diesen Perioden hinweist, welche durch wesentliche Veränderung des Ektoplasmas bedingt sind. Wie bedeutend in diesem Sinne der Unterschied je nach dem Entwicklungsstadium des Mikroorganismus ist, zeigen die Beobachtungen von Levaditi und Inman (18) am Typhusbacillus, dessen 4-stündige Bouillonkultur im Vergleich zur 24-stündigen nur in schwachem Grade der Phagocytose anheimfällt.

Den Entwicklungsgang der Kapsel beim Milzbrandbacillus haben am ausführlichsten Preisz und Fischhoeder beschrieben. Eine Viertel- oder eine halbe Stunde nach dem Auswachsen der Sporen treten die Kapseln bei den jungen Bacillen zunächst an den Enden der einzelnen Glieder auf, denselben ein bambusartiges Aussehen gebend, und dann an den Rändern. Beim weiteren Wachstum sieht man häufig lange Fäden, deren Kapseln fast ohne jede Krümmung geradlinig oder in etwas gebogener Richtung verlaufen. Nicht selten haben jedoch die Kapseln ein unregelmäßiges Aussehen mit Vertiefungen an einzelnen Stellen, sind von verschiedener Breite und, was die Hauptsache ist, färben sich in einzelnen Fällen ungleichmäßig. Man gewinnt den Eindruck, als ob mehrere Glieder ein und derselben Kette eine eigene Kapsel hätten (Fischhoeder). Zugleich werden bisweilen verschiedene Entwicklungsstadien der Kapsel an ein und demselben Faden beobachtet; man sieht einerseits Glieder, die vollständig kapsellos sind, und andererseits solche, die eine gut ausgeprägte Kapsel aufweisen. Diejenigen wellenförmigen Linien, die an der lateralen Seite der Kapsel auftreten, erklärt Fischhoeder durch ungleichmäßige Aufquellung der letzteren. Bei der Färbung färbt sich die äußere Schicht der Kapsel dunkler und geht allmählich in eine hellere innere Schicht über; in anderen Fällen verlieren sich die Grenzen der Kapseln oder konfluieren miteinander. Auf der Höhe ihrer Entwicklung ist die Kapsel 5—6mal so breit wie der Bacillus selbst. Ein solcher Tierbacillus ist gewöhnlich 7mal so breit wie der Kulturbacillus.

Nachdem die Kapsel 8—10, höchstens 12—14 Stunden existiert hat, geht sie in Zerfall über. Der dunkel gefärbte, mehr oder minder ebene Rand verwandelt sich in einen hellen, höckerigen, die Kapsel löst sich

dann vom Bacillus ab und zerfällt in formlose, wellenförmige Massen. Im Gesichtsfelde zeigt dieser Zerfall bei der Färbung nach der Methode von Klett einen rötlichen Schimmer.

Bei einigen degenerativen Veränderungen der Bacillen entstehen leere Kapseln, worauf schon Koch hingewiesen hat. Nach der Ansicht von Hamm (13) kommen leere Kapseln nicht nur beim Zerfallen der Bacillen, sondern auch im Entwicklungsstadium der letzteren vor.

Die interessanteste und rätselhafteste Erscheinung, welche gewöhnlich gegen Ende der Infektion beobachtet wird, ist der Ersatz der Kapselbakterien durch dicke, kurze Stäbchen, die keine Kapsel tragen. Einige Autoren [Deutsch (7), Löhlein (20)] haben hervorgehoben, daß diese jungen Bacillen sind, welche die dritte Generation der Milzbrandinfektion darstellen. Diese Stäbchen kommen am häufigsten in den inneren Organen vor und machen nach der Meinung von Preisz stets den Eindruck von regenerierten Bacillen. An solchen Bacillen treten in einigen Fällen gleichfalls Kapseln auf, nur haben die letzteren das Aussehen von neugebildeten und sind nach den Beobachtungen von Fischöder schon 2—5 Stunden nach der subkutanen Einführung von Kapselbacillen bei empfänglichen Tieren deutlich zu sehen. Nach dem Tode des Tieres bleiben die Kapseln gewöhnlich 5—6 Stunden bestehen und gehen dann in Zerfall über.

Von großem Interesse ist die chemische Zusammensetzung der Kapseln bei den Milzbrandbacillen. Professor Heim (14) deutet auf Grund der Reaktion mit Polychrom-Methylenblau die Substanz der Kapseln als Mucin, welches hierbei metachromatische Färbung gibt. Prof. W. W. Podwyssotzki und W. A. Taranuchin (26) sind bei ihren Untersuchungen jedoch zu dem Schlusse gelangt, daß die Substanz der Kapseln albuminöider Natur ist und dem Glykogen nahe steht. Preisz hat, indem er die Kapselsubstanz in schwachen Alkalien löste und mit Essigsäure fällte, eine harte, gelbliche Masse bekommen, welche sich in verschiedenen Serumarten leicht löste. In Alkalien löste sich diese Substanz gleichfalls gut, wobei sie in Alkohol-Aether-Lösung zelluloidartig aufquoll, wobei sich ein starker Geruch entwickelte, welcher an frisch gekochte Schweinesülze erinnerte. Der Verfasser nannte diese Substanz, welche bei der Milzbrandinfektion leicht in das Blut und in die inneren Organe übergeht, Anthracomucin.

Tatsächlich fanden Professor Behring und Much (5), indem sie Methylenblau mit Eosin anwendeten, eine rötliche Nuance des Endothels des Herzens und der Gefäße bei infizierten Mäusen und hielten diese Erscheinung für oxyphile Degeneration des Protoplasmas der Zellen unter dem Einflusse der Milzbrandbacillen. Heim hält diese Erklärung für hinfällig, und weist darauf hin, daß jene Reaktion durch Zerfall der Substanz der Kapseln bedingt ist, deren Schleim den Zellen anhaftet oder in diese hineingerät und dann eine gewisse metachromatische Färbung hervorruft.

Eine genauere Untersuchung der Kapselsubstanz wurde von Hamm ausgeführt, der dieselbe als Nukleoproteid bezeichnete. Zu diesem Schlusse ist auch Tiberti (28) gelangt.

Indem wir nun zur Erörterung der Ansichten über die physiologische Rolle der Kapseln übergehen, müssen wir vor allem sagen, daß sich die letzteren auch außerhalb des tierischen Organismus gut entwickeln, und zwar sowohl auf aktivem, als auch inaktivem Blutserum, auf frisch bereitetem etwas besser als auf altem. Prof. Podwyssotzki und Tara-

nuchin ist es gelungen, ein hartes Medium (Markpeptonagar) herzustellen, auf dem sich bei den Milzbrandbacillen ganz ausgezeichnet Kapseln entwickelten.

Die von einigen Autoren (Bail) ausgeführten vergleichenden Beobachtungen über den Milzbrandbacillus im tierischen Organismus und in Kulturen haben zu dem Schlusse geführt, daß derselbe auf gewöhnlichen Nährmedien wie ein Saprophyt wächst und sich nur im tierischen Organismus vollkommen, nämlich als wirklicher Parasit entwickelt, und daß der Weg vom Saprophytenleben zum Parasitenleben stets von morphologischen Veränderungen begleitet wird [Marx (22)].

Da die Milzbrandbacillen im tierischen Organismus sich nur gegen die Wirkung der Zellelemente und der Gewebssäfte zu schützen vermögen, so gehen auch sämtliche Beobachtungen über die physiologische Rolle der Kapseln hauptsächlich auf die Lösung der Frage hinaus, wie sich die kapseltragenden und die kapsellosen Bacillen den Zellelementen gegenüber einerseits und dem Blutserum gegenüber andererseits verhalten.

Die Schutzrolle der Kapseln in bezug auf die Phagocytose haben Gruber und Futaki in ihren Untersuchungen systematisch verfolgt. Nach Ansicht dieser Autoren legen sich die Milzbrandbacillen bei Infektion empfänglicher Tiere Kapseln zu und schützen sich auf diese Weise vor der Phagocytose. Bei den unempfindlichen Tieren fehlen die kapseltragenden Bacillen ganz oder entwickeln sich nur schwach, was zur Folge hat, daß die Milzbrandbacillen von den Leukocyten rasch phagocytiert werden. Dadurch erklärt sich das vollständige Fehlen von Phagocytose bei Kaninchen und Meerschweinchen, während bei Hühnern außer der gesteigerten Phagocytose noch die sogenannte Kontaktvernichtung der Mikroorganismen durch Ausscheidung von besonderen, die Bacillen zerstörenden Substanzen seitens der Leukocyten beobachtet wird.

Diese Ansicht über die Schutzrolle der Kapseln steht im Widerspruch zu den Beobachtungen von vielen Autoren [Bail, Czaplewski (6), Lubarsch (21), Petruschky (25), Preisz u. a.], die sich dafür aussprechen, daß die Milzbrandbacillen außerhalb der Zellen vernichtet und dann erst, also im toten Zustande, phagocytiert werden. Preisz glaubt, daß die Leukocytose bei der Milzbrandinfektion eine sekundäre Erscheinung ist, welche durch die extracelluläre Vernichtung der Bacillen hervorgerufen ist, so daß die Phagocytose bei unempfindlichen und empfänglichen Tieren keine wesentliche Rolle spielt. Noch entschiedener äußerte sich zu dieser Frage Fischöder, nach dessen Meinung die Phagocytose sowohl der kapseltragenden als auch der kapsellosen Bacillen in so schwachem Grade vor sich geht, daß gar keine Veranlassung vorliegt, ihr irgendwelche Bedeutung beizumessen. Man kann nur hervorheben, daß das Ergreifen der kapseltragenden Bacillen durch Leukocyten seltener beobachtet wird als dasjenige der kapsellosen; jedoch steht dieser Umstand nach der Ansicht des Autors mit rein mechanischen Ursachen im Zusammenhang.

Was die anthrakozyde Kraft der Lymphe und des Blutes auf die kapseltragenden und kapsellosen Bacillen betrifft, so bestehen über diese so wichtige Frage diametral entgegengesetzte Beobachtungen. Auf Grund ihrer Experimente sind Gruber und Futaki zu dem Schlusse gelangt, daß im subkutanen Bindegewebe empfänglicher Tiere kapseltragende Bacillen rasch auftreten, weil ihre Lymphe fast gar keine bakteriziden Eigenschaften besitzt. Ein ganz anderes Bild wird bei un-

empfindlichen Tieren beobachtet, deren subkutane Lymphe starke bakterizide Eigenschaften aufweist, welche die Milzbrandbacillen vernichten, bzw. in weniger günstigen Fällen die Kapselbildung in bedeutendem Maße hemmen. Die physiologische Quelle der bakteriziden Eigenschaften der Lymphe sind die Leukocyten, welche ihre anthrakoziden Substanzen bisweilen in unerschöpflicher Quantität abgeben. Das Blutplasma und überhaupt das lebende Blut läßt bei einem so empfindlichen Tiere wie das Kaninchen, diese Substanz vermissen. Dafür geben aber die Blutplättchen, indem sie in Zerstörung übergehen, in großer Quantität eine bakterizide Substanz ab, nämlich Plakanthrakozidin, welches die Milzbrandbacillen rasch abtötet. Wenn die Kaninchen trotzdem zugrunde gehen, so ist das dadurch zu erklären, daß das Plakanthrakozidin im Blute zu spät auftritt. Preisz, der eine direkte Wechselbeziehung zwischen der Kapselbildung und der Empfindlichkeit des Tieres annimmt, berücksichtigt außer den anthrakoziden Eigenschaften der Lymphe und des Blutserums noch andere Substanzen, welche die Kapselbildung fördern. Er zieht auf Grund seiner Experimente den Schluß, daß die kapseltragenden Bacillen nicht nur der bakteriziden Wirkung der Lymphe und des Blutserums länger widerstehen als die kapsellosen, sondern obendrein als Quelle der Kapselsubstanz dienen, welche in das Blutssystem übergeht und die bakteriziden Substanzen des Blutes neutralisiert. Um die Schutzrolle der Kapseln schärfer hervortreten zu lassen, brachte der Verfasser einen Seidenfaden mit kapseltragenden Bacillen in eine 0,2-proz. Karbolsäurelösung, zerzupfte ihn dort und verglich dann die Wirkung der betreffenden Lösung auf eine Bouillonkultur. Es ergab sich hierbei, daß im ersteren Falle die Bacillen nach 15 Minuten noch lebten, während sie im letzteren Falle innerhalb 15 Sekunden zugrunde gingen.

Fischoeder weist, indem er die Schlüsse von Preisz einer Nachprüfung unterzieht, darauf hin, daß die in Betracht kommenden Experimente eine strenge Gleichförmigkeit vermissen lassen, und daß außerdem einige Ungenauigkeiten nachgewiesen worden sind. So wurden beispielsweise bei der Untersuchung der anthrakoziden Eigenschaften des Serums die Mikroorganismen nicht gezählt, so daß es nicht ausgeschlossen ist, daß die kapseltragenden Bacillen vielleicht dadurch am Leben geblieben sind, daß sie in weit größerer Anzahl vorhanden waren als die anthrakoziden Substanzen des Serums. Fischoeder hat 18 Parallelexperimente mit verschiedenen Serumarten ausgeführt und ganz andere Resultate erzielt. Dieser Autor ist der Ansicht, daß die kapseltragenden Bacillen im tierischen Organismus über eine geringere Widerstandsfähigkeit verfügen als die aus dem Serum erhaltenen, daß aber diese Bacillen jedenfalls nicht nur dem Kaninchenserum keinen energischeren Widerstand leisten, sondern im Vergleich zu den kapsellosen sogar eher zugrunde gehen. Bei Injektion von Milzbrandbacillen in das Blut gehen die einen sowohl wie die anderen schon in einigen Minuten zugrunde. Bei weiteren Experimenten mit dem Blute von Mäusen, vom Rind, vom Meerschweinchen, wurde dasselbe Resultat erzielt. Die geringe Widerstandsfähigkeit der Kapselbacillen ist nach Ansicht des Autors geradezu auffallend. Der Zerfall der kapseltragenden Bacillen im Kaninchenserum geht anders vor sich als derjenige der kapsellosen. Während letztere aufquellen, lösen sich die kapseltragenden Bacillen gleichsam auf, so daß am Ende leere Kapseln entstehen. Um die Experimente von Preisz mit der Wirkung der antiseptischen Mittel nachzuprüfen,



nahm Fiscoeder Sublimatlösung und erzielte die gleiche Wirkung auf kapseltragende und kapsellose Bacillen. Die entgegengesetzten Resultate von Preisz führt er darauf zurück, daß die Seidenfäden beim Zerpupfen die anthrakoziden Eigenschaften des Serums, worauf schon Behring (4) aufmerksam gemacht hat, schwächen oder sogar vollständig vernichten.

Alle diese Beobachtungen Fiscoeders wurden durch die Untersuchungen anderer Autoren teilweise bestätigt. So haben anthrakozide Wirkung des Kaninchenserums auf kapseltragende Bacillen Nuttall (23) und Ascoli (1) beobachtet, und sogar Gruber und Futaki konnten nicht umhin, eine starke bakterizide Eigenschaft des Kaninchenserums auf dieselben Bacillen hervorzuheben.

Mit dem gewonnenen Anthrakomucin hat Preisz eine genügende Anzahl von Experimenten ausgeführt, die darauf abzielten, den Beweis zu führen, daß die Kapselsubstanz, welche zum Schutze der Bakterien dient, erstens bei empfänglichen Tieren das Inkubationsstadium abkürzen muß, zweitens wenig empfänglichen Tieren Empfänglichkeit beibringen und drittens die Möglichkeit gewähren muß, empfängliche Tiere mit nicht-virulenten und mitigierten Milzbrandkulturen zu infizieren. Jedoch ist es Preisz nicht gelungen, diese Experimente mit positivem Resultat durchzuführen. Allerdings hat er Abschwächung der bakteriziden Kraft des Serums durch Zusatz von Kapselsubstanz zu derselben beobachtet. Jedoch hält Fiscoeder dieses Experiment für nicht beweiskräftig, da der Zusatz jeder fremden Substanz die bakterizide Kraft des Serums in bedeutendem Grade herabsetzen oder sogar vollständig vernichten kann, wie dies durch die Beobachtungen von Lingelsheim (19) mit Schleimsubstanzen auch bestätigt wird.

Auf Grund aller dieser Erwägungen stellt Fiscoeder die Schutzrolle der Kapsel in Abrede und gelangt zu dem Schlusse, daß die Kapsel einen krankhaften Zustand des Bacillus, gleichsam eine Hautkrankheit des Bacillus darstellt. Ungefähr derselben Meinung ist auch Pane (24), der die Kapsel als Degenerationerscheinung betrachtet. Viele Autoren (Bail, Eisenberg, Hamm u. a.) äußern sich negativ über die Schutzrolle der Kapseln und halten sie für ein Reizungsprodukt des Ektoplasmas.

Wenn man sich die Sache richtig überlegt, kann man nicht umhin, Fiscoeder beizupflichten, daß nach der allgemein angenommenen Theorie der biologischen Bedeutung der Kapseln viele Erscheinungen nicht erklärt werden können. Vor allem gibt es keinen engen Zusammenhang zwischen der Kapselbildung und der Unempfänglichkeit der Tiere, da im Organismus der letzteren auch kapseltragende Bacillen beobachtet werden, was schon eine schwer zu erklärende Erscheinung bildet. Haben sich einmal Kapseln gebildet, so müssen sie die Bakterien schützen und ihre Vermehrung fördern. Andererseits müßten, wenn die Kapseln die Bacillen geschützt hätten, die mit kapseltragenden Bacillen infizierten Tiere nicht nur rascher zugrunde gehen, sondern kein Tier wäre von der Infektion verschont geblieben, was in Wirklichkeit doch nicht der Fall ist. Die Erscheinung, daß nach dem ersten Massensterben der Bacillen die zurückgebliebene Quantität sich wenig verändert und dann sich plötzlich vermehrt, kann vom Standpunkte des Kapselschutzes nicht erklärt werden, da zu dieser Zeit die meisten Bacillen ihre Kapsel schon verloren haben.



Aus der vorgebrachten Uebersicht der Literatur geht hervor, daß wir jetzt über eine genügende Anzahl von Beobachtungen verfügen, die annehmen lassen, daß die Entwicklung und das Leben der Milzbrandbacillen eine weit kompliziertere Erscheinung darstellen, als dies vom Standpunkt der bestehenden Begriffe scheint. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Kapsel eine gewisse biologische Bedeutung hat, welche den Tierbacillus vom Kulturbacillus unterscheidet.

Nun entsteht die Frage, ob es möglich ist, alle diese Beobachtungen miteinander in Zusammenhang zu bringen, die im ersten Augenblick wenig Wechselbeziehungen zueinander zu haben scheinen, nach ihrem theoretischen Interesse ungenügend gesichtet und einige auch wenig nachgeprüft zu sein scheinen. Vor allem muß man drei Erscheinungen beachten, nämlich das Vorkommen von Nukleoproteid in der Kapselsubstanz, den bestimmten Entwicklungszyklus der Kapseln und das Auftreten von Bacillen der sogenannten dritten Generation.

Das Nukleoproteid weist darauf hin, daß in der Kapsel Kernsubstanz enthalten ist. Wir müssen also annehmen, daß diese Substanz die Kapseln in Lösung imprägniert, was wenig wahrscheinlich ist, oder in der Kapsel selbst in Form von verschiedenen Granula enthalten ist, welche der Kernsubstanz nahe stehen. Letztere Annahme kann nicht als wenig wahrscheinlich erscheinen, da der Schleim die feinere Struktur der Kapsel dem Auge unkenntlich machen, zugleich aber ihr eine besondere Zartheit und Widerstandsfähigkeit beibringen kann.

Wenn es in bezug auf die Körnung der Kulturmilzbrandbacillen eine genügende Anzahl von Arbeiten gibt, so haben wir über die Körnung der Tierbacillen nur bruchstückartige Beobachtungen. In einer seiner Arbeiten weist Koch darauf hin, daß er auf Schnitten aus einem Karbunkel in der äußeren Schicht der Bacillen zahlreiche Granula gesehen hat, die zur Sporenbildung in Beziehung stehen.

Was die Kapseln betrifft, so ist vor allem das Auftreten derselben im Stadium der gesteigerten Lebensfähigkeit des Bacillus und der stärksten Entwicklung des Mikroorganismus überhaupt beachtenswert. Schon dieser Umstand allein läßt die von Fischöder ausgesprochene Annahme, daß die Kapsel ein abnormer, krankhafter Zustand sei, verwerfen und sich der Ansicht von Donati (8) anschließen, der in der Kapselbildung eine mit der Virulenz des Bacillus verknüpfte morphologische Veränderung desselben erblickt.

Liegt irgendeine Zweckmäßigkeit darin, daß die Kapsel auf der Höhe ihrer Entwicklung zu zerfallen beginnt?

Diese Erscheinung erlangt die Bedeutung eines wichtigen biologischen Momentes nur dann, wenn samt dem Zerfall nur die eine Seite des biologischen Prozesses unterbrochen wird, um einer anderen Platz zu machen, die mit der zerfallenen Substanz der Kapseln verknüpft ist. Hier muß man sich die Beobachtung von Hamm vergegenwärtigen, der darauf hingewiesen hat, daß im Stadium der Entwicklung des Mikroorganismus leere Kapseln, beispielsweise mit Spuren von Chromatinkörnern, vorhanden sind.

Da die Bildung von leeren Kapseln an und für sich ein Nonsens gewesen wäre, so muß in solchen Fällen natürlich ein Mikroorganismus sich vorfinden, der sich mittels der gewöhnlichen Reagentien nicht nachweisen läßt. Daraus ergibt sich ein direkter Uebergang zu der Annahme, daß die zerfallene Kapselsubstanz vielleicht nur im ersten Augenblick homogen erscheint, und daß in dieser Substanz womöglich sich Keime

verstecken, die eine gewisse Uebergangsstufe der Entwicklung des Mikroorganismus bilden. Die Beobachtung, daß in ein und derselben Kette Kapseln auf verschiedenen Entwicklungsstufen zu sehen sind, weist eher darauf hin, daß die einzelnen Glieder ein selbständiges Leben führen und ihren Kapseln entsprechend sich gleichfalls in verschiedenen Entwicklungsstadien befinden.

Jedenfalls scheint diese Erscheinung vom modernen Standpunkte über die Bakterienvermehrung durch Teilung vollkommen unerklärlich zu sein, da sie der allgemein akzeptierten Ansicht von der Kapsel als integrierendem Bestandteil des Mikroorganismus, der eine Modifikation der Hülle darstellt, nicht entspricht. Andererseits wird es, wenn man sich auf den Standpunkt von Preisz stellt, daß die Kapsel ein neutraler Faktor im Leben des Bacillus ist, gleichfalls unverständlich, wie ein so wichtiges Gebilde unabhängig vom Bacillus sich entwickeln und bestehen kann.

Indem ich nun zu der so rätselhaften und doch nach der Ansicht einiger Autoren (Priesz) wunderbaren Erscheinung wie die Massenregeneration der Bacillen durch die dritte Generation übergehe, muß ich sagen, daß es für diese Beobachtung keine genügenden Erklärungen gibt. Bail sucht das Auftreten dieser Bacillen dadurch zu erklären, daß die von den Leukocyten aufgegriffenen Sporen längere Zeit lebensfähig bleiben und dann beim Zerfall der Phagocyten zu wachsen beginnen. Priesz führt die Entstehung der jungen Bacillen auf zurückgebliebene Keime zurück. Wäre hierbei von einer geringen Anzahl von Mikroorganismen die Rede, so hätte die Erklärung von Bail und Priesz eine gewisse Berechtigung; im vorliegenden Falle aber wird ein Massenaufreten von Tierbacillen beobachtet, was auf ein konstantes und folgerichtiges biologisches Moment hinweist, welches folgendermaßen gedeutet wird: Die Kapseln gehen, nachdem sie eine gewisse Reife erreicht haben, in Zerfall über, und dann bilden sich junge Bacillen. Diese zwei Erscheinungen sind miteinander zweifellos verknüpft, und deren Zusammenhang wird nur dann verständlich, wenn wir das Vorhandensein von embryonalem Leben in der Kapselsubstanz selbst annehmen.

Vergleichende Beobachtungen zeigen, daß solche Erscheinungen auch bei manchen niederen Mikroorganismen vorkommen, die den Bakterien näher stehen. Bekanntlich werden bei den Ascomycetenpilzen und den Flechtenarten Kapseln beobachtet, die nichts anderes sind als Sporangien mit feststehender Form und bestimmter Sporenzahl. Diese Sporen werden durch Auflösung oder Zerreißen der Kapsel frei. Bei den grünen Algen dienen zum Zwecke der Vermehrung unter gewöhnlichen Verhältnissen Zoosporen, die aus der Zelle infolge einer Verschleimung der Hülle der Algen heraustreten. Die Bildung von Endosporen oder von sogenannten ruhenden Sporen wird am häufigsten bei ungünstigen Verhältnissen beobachtet und dient zur Erhaltung der Art, aber nicht zur Vermehrung.

Der alte Begriff von Arthrosporen, an dem viele Autoren, darunter de Bary und Hueppe, festhielten, ergab sich hauptsächlich aus der theoretischen Erwägung, daß viele Erscheinungen aus dem Leben der Bakterien auf ihre Vermehrung durch Teilung nicht zurückgeführt werden können. Gewöhnlich werden verblüffende Zahlen für diejenigen Bakterienmengen angeführt, welche durch die Teilung eines einzelnen Bacillus innerhalb 24 Stunden hervorgehen. Diese Rechnung ist für den tierischen

Organismus nicht anwendbar, weil in diesem ein energischer und immerwährender Kampf vor sich geht. In dieser Beziehung erscheint die Sporenvermehrung, bei der auf einmal eine große Quantität von Keimen von ein und demselben Organismus auftritt und dies meistens in einer Generation, zweckmäßiger und vollkommener.

Wenn man annimmt, daß die Kapsel in naher Beziehung zum Prozeß der gesteigerten Vermehrung des Milzbrandbacillus steht, wird es begreiflich, warum die Ansicht entstanden ist, daß die Kapsel eine Schutzvorrichtung ist, und warum einige Autoren (Donati, Kühnemann, Preisz) an der Ansicht festhalten, daß Virulenz und Kapselbildung miteinander verknüpft sind. Tatsächlich werden im Endziel die Resultate einander nahe sein, ob man an der Schutzrolle der Kapseln festhält oder dieselben als Quelle der Vermehrung betrachtet, da es sich in dem einen und in dem anderen Falle eigentlich um Erhaltung der Art handelt. Es unterliegt keinem Zweifel, daß der Grundbegriff des Schutzes mit der Annahme vollständig übereinstimmt, daß die Kapsel eine reiche Infektionsquelle für den Organismus bildet, und zugleich entspricht dies dem Begriff der besonderen Virulenz des kapseltragenden Bacillus.

Man kann die bei dieser theoretischen Betrachtung der Milzbrandinfektion zur Beobachtung gelangenden Erscheinungen erklären, ohne in Widerspruch zu den feststehenden biologischen Eigenschaften des Milzbrandbacillus zu geraten. Am schwierigsten ist die Frage der Immunität der unempfindlichen Tiere, bei denen gleichfalls Kapselbildung beobachtet wird. Wenn man in Betracht zieht, daß die Kapseln in diesen Fällen am häufigsten schwach entwickelt sind, und daß die Vermehrung hierbei womöglich niemals bis zur Bildung von Bacillen dritter Generation kommt, so wird die vollständige Unempfindlichkeit dieser Tiere begreiflich erscheinen. Die Bildung von kapseltragenden Bacillen außerhalb des Organismus auf Nährmedien, die morphologischen Veränderungen der Kapseln, das Massenaufreten von jungen Bacillen in den inneren Organen gegen Ende der Infektion lassen sich leicht auf die Sporenvermehrung des Mikroorganismus unter denjenigen günstigen Bedingungen zurückführen, wo der Bacillus imstande ist, seine sämtlichen funktionellen und biologischen Eigenschaften zu entfalten.

Indem ich nun zu meinen eigenen Untersuchungen übergehe, glaube ich, vor allem darauf hinweisen zu müssen, daß die ganze Schwierigkeit bei den Beobachtungen am Tierbacillus einerseits in der geringen Widerstandsfähigkeit der schleimigen Kapselsubstanz, andererseits in der Eigenschaft der letzteren liegt, alle undeutlichen Konturen zu maskieren und zu beseitigen. Unter diesen Umständen muß man durch zahlreiche Versuche nach Hilfsmitteln suchen, die bei der Untersuchung wesentliche Dienste leisten, indem sie die Kapselsubstanz verdichteten und hauptsächlich sämtlichen verschiedenartigen Bestandteilen des Tierbacillus deutlichere Konturen beibrachten.

Bekanntlich besitzen solche Eigenschaften weder Alkalien noch Säuren. Ebenso wenig geeignet sind hierfür die verschiedenen Farbstofflösungen, die zur Darstellung der Kapseln gewöhnlich angewendet werden. Als zweckdienliche Ausnahme aus den zahlreichen geprüften Mitteln erwies sich *Argentum nitricum*, das bekanntlich in der histologischen Technik bei der Bestimmung der Grenzen einiger Gewebelemente dank seiner Wirkung auf die interstitielle Klebsubstanz vorzügliche Resultate hat erzielen lassen. Natürlich ist für solche bakteriologische Zwecke wie die Untersuchung der Kapsel eine schwache

**Argentum nitricum-Wirkung ohne nachfolgende Silberreduktion erwünscht, da die Ablagerung von Silber ein verworrenes Bild gegeben hätte.**

Wenn man 2—10-proz. wässrige Argentum nitricum-Lösungen verwendet, so kann man bei zerstreutem Licht eine Wirkung erzielen, bei dem sämtliche Bestandteile des Bacillus gut erhalten bleiben, und bei der nächstfolgenden Färbung die Konturen der einzelnen Bestandteile desselben scharf hervortreten. Die frischen Ausstrichpräparate werden zuvor mit absolutem Alkohol oder mit Osmiumsäuredämpfen fixiert; gute Resultate ergibt auch das langsame Trocknen bei Zimmertemperatur innerhalb 24 Stunden. Die Argentum nitricum-Lösung wird auf das auf dem Objektträger befindliche Ausstrichpräparat gegossen, nach minutenlanger Wirkung rasch mit destilliertem Wasser abgespült und dann 2—5 Minuten lang gefärbt. Methylenblau in allen möglichen Lösungen erzeugt hierbei metachromatische Rotfärbung der Kapsel und der zerfallenen Kapselsubstanz, Safranin erzeugt Gelbfärbung, Thioninlösungen bewirken eine bläuliche Färbung der Kapsel, während Methylviolett in 1 proz. wässriger Lösung denselben Teilen schwache Violett-färbung beibringt, wobei es die schleimige Kapselsubstanz etwas löst. Man kann also mittels verschiedener Farbstoffe bei Einwirkung des Argentum nitricum deutliche Bilder des Tierbacillus erhalten, die an Deutlichkeit selbst in denjenigen Fällen nichts einbüßen, in denen im Gesichtsfeld augenscheinlich als Resultat des Argentum nitricum auf die Schleim-Eiweißsubstanzen Körnung auftritt.

Dank den scharfen Konturen des Tierbacillus sieht man vor allem deutlich, daß in einigen Ketten einzelne Glieder keine gerade Linie bilden, sondern seitwärts verschoben sind; stellenweise sind die Zwischenräume zwischen denselben so breit, daß die Kapselsubstanz in Form von Brückchen von der einen Seite auf die andere übergeht. Ferner treten bei dieser Bearbeitungsmethode alle möglichen Kontraste in der Färbung der Kapseln der verschiedenen Entwicklungsperioden deutlich zutage. In den langen Ketten sieht man häufig schwach entwickelte und kaum gefärbte Kapseln neben gut ausgeprägten. Nicht selten sieht man Glieder, die gar keine Kapsel haben und dabei schwach gefärbt sind. Solche Bilder bringen uns auf den Gedanken, daß man es mit verschiedenen Entwicklungsgraden des zu einem Faden vereinigten Mikroorganismus zu tun hat. Die jüngeren Glieder mit entsprechenden Kapseln sind am häufigsten an den Rändern der Kette zu sehen.

Sogenannte leere Kapseln kommen sowohl einzeln als auch in Ketten vor, bisweilen in ihrem mittleren Teile (Mikrophot. 3). indem sie schon in den ersten Stunden nach der Infektion auftreten (Mikrophot. 2). Wenn man Wasser- oder Karbollösungen der Farbstoffe in Anilinwasser anwendet, kann man sich leicht überzeugen, daß die Leere der Kapseln nur eine scheinbare ist, indem in denselben entweder schwach gefärbte feine Fäden oder kleine runde Gebilde zu sehen sind (Mikrophotogr. 8), bisweilen mit intensiver gefärbten Chromatinkörnern. Dieselben alkalischen Farbstoffe gewähren die Möglichkeit, auch die feinere Struktur der Kapseln der Beobachtung zugänglich zu machen. Vor allem tritt in derselben deutlich Querstreifung hervor, was besonders scharf bei der Einwirkung von Thioninlösungen beobachtet wird (Mikrophotogr. 1). Breitere Streifen färben sich so wie der Bacillus, von dem sie ausgehen, selbst, wobei sie den peripherischen Rand der Kapsel erreichen. Je breiter die Kapsel, desto deutlicher tritt die Querstreifung zutage.

Es ist leicht zu beobachten, daß die Bildung der Kapsel mit hochgradiger Aufquellung des Ektoplasmas beginnt, welches hierbei die Fähigkeit erlangt, sich intensiver zu färben als der übrige Teil des Bacillus. Das ist der erste Entwicklungsgrad der Kapsel, in dessen Verlauf nicht selten glänzende Gebilde zu sehen sind, welche das Aussehen von kleinen Sporen von runder oder länglicher Form haben, die die obere Schicht des Ektoplasmas bisweilen leicht abheben. Beim weiteren Aufquellen der peripherischen Schicht beginnt die metachromatische Färbung hervorzutreten, welche für die Kapselsubstanz charakteristisch ist; dabei geht die Modifikation in einzelnen Teilen vor sich, am Ende des Bacillus beginnend, wodurch man nicht selten junge Kapseln beobachten kann, welche von einer breiten Brücke gefärbten Ektoplasmas gekreuzt werden. Die Entwicklung der Kapsel geht an ein und demselben Bacillus nicht immer gleichmäßig vor sich. Häufig sieht man eine gut entwickelte Kapsel nur auf der einen Seite, während auf der anderen Aufquellung des Protoplasmas beobachtet wird.

In gut entwickelten Kapseln treten bei dieser Bearbeitungsmethode glänzende Sporen (Mikrophotogr. 5) deutlich zutage, bisweilen in einer Quantität von 8—12 Stück, mit stark konturierten Grenzen. Die Sporen weisen an der Peripherie häufig gesättigtere Rotfärbung auf.

Durch ihr konstantes Vorkommen, durch die Regelmäßigkeit ihrer Anordnung und ihr allgemeines Aussehen unterscheiden sie sich von den verschiedenen künstlichen Gebilden und vor allem von den Formen der Plasmolyse. Ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal ist jedoch ihre Fähigkeit, sich zu färben, wenn auch hierbei bedeutende Schwierigkeiten hauptsächlich aus dem Grunde entgegentreten, weil die intensiven Farbstoffe, besonders bei Erwärmung, entweder den ganzen Bacillus diffus färben oder, was noch häufiger der Fall ist, den Zerfall der Kapsel fördern. Die besten Resultate geben Borax-Methylenblau, das Kühnesche Methylenblau, ferner einige alkalische Farbenlösungen, beispielsweise das nach demselben Rezept wie das Loefflersche hergestellte Antiformin-methylenblau. Bei dieser Bearbeitung nehmen einzelne Sporen bisweilen rötliche Färbung an, während die reiferen sich blau oder dunkelblau färben (Mikrophotogr. 6). Die Größe der Sporen schwankt je nach dem Entwicklungsstadium in bedeutendem Maße.

Wie scharf Argentum nitricum-Lösungen die einzelnen Bestandteile des Tierbacillus konturieren, zeigt das mikroskopische Bild derjenigen zahlreichen verschiedenartigsten Gebilde, die im Gesichtsfeld beim Zerfall der Kapseln auftreten (Mikrophotogr. 7). Am häufigsten sieht man lange, sich verästelnde Fäden, die sich bei Anwendung von Methylenblaulösungen metachromatisch rot färben. In solcher zerfallenen Kapselsubstanz färben sich dieselben Sporen schon bedeutend besser. Ein deutliches Bild erhält man auch in denjenigen Fällen, in denen die Kapselsubstanz etwas in Lösung übergeht, was nicht selten bei längerer Einwirkung alkalischer Farbstoffe, besonders bei gleichzeitiger Anwendung einer wässrigen Methylviolettlösung, beobachtet wird.

In einigen Fällen gelingt es nur, den zentralen Kern dieser Sporen zu färben. Da die Kapselsubstanz hierbei etwas in Lösung übergeht, so erhält man ein Bild, welches an zahlreiche und verschiedene Kokken mit Reifen an der Peripherie erinnert. Sowohl die Bildung als auch der Zerfall der Kapsel geht sukzessive vor sich und beginnt nicht selten schon 5—6 Stunden nach der Infektion des Tieres.

Wenn man den Entwicklungsgang des Milzbrandbacillus bei der Infektion eines empfänglichen Tieres mit einer Sporenkultur beobachtet, so kann man leicht wahrnehmen, daß die Kulturfäden schon nach einigen Minuten zerfallen und zahlreiche Sporen frei werden lassen, deren überwiegende Quantität von länglicher Form ist, während nur wenige vollständig rund sind. Das Fortwachsen der ersteren beginnt damit, daß die ganze Spore bedeutend aufquillt, ihren Glanz einbüßt, und nach einiger Zeit die Fähigkeit erlangt, sich ziemlich leicht zu färben, und zwar zunächst im Zentrum in Form eines einzelnen Körnchens und dann an der ganzen Peripherie. Sie leicht verlängern, haben die Sporen zu dieser Zeit das Aussehen eines kurzen Stäbchens mit abgerundeten Enden, an dessen einer Seite die ersten Zeichen der Kapsel erscheinen. Zwischen zwei neugebildeten Stäbchen bleibt nicht selten ein kleiner heller Streifen, der sich auch auf die Kapsel erstreckt, augenscheinlich infolge der schwachen Adhäsion der konusförmigen Enden der jungen Glieder. In seltenen Fällen wachsen diese Sporen in den zurückgebliebenen kurzen Kulturfäden fort, die sich etwas verdicken und sich dunkler färben, und dann an einzelnen Stellen sich mit Kapseln bedecken. Die großen runden Sporen, die augenscheinlich eine besondere Widerstandsfähigkeit besitzen, büßen beim Fortwachsen gleichfalls ihren Glanz ein und quellen auf, wobei jedoch ihre Hülle sich gleichsam auflöst und die Fähigkeit erlangt, sich mit Methylenblau metachromatisch rot zu färben. Im Zentrum dieses Gebildes sieht man ein glänzendes Sporenkörnchen, welches bei der Verlängerung des gefärbten Reifens nach und nach seine Konturen einbüßt. Somit kann man schon nach  $\frac{1}{2}$  Stunde das Auftreten von kurzen leeren Kapseln beobachten, in denen bei längerer Einwirkung der alkalischen Farbstoffe ein zentral gefärbtes Körnchen wahrgenommen werden kann. Mit der Zeit vergrößert sich die leere Kapsel; es tritt in derselben ein zentraler Strang auf, der zunächst eine gesättigtere metachromatische Färbung aufweist, dann eine bläuliche Färbung annimmt. Das Wachstum des jungen Stäbchens geht bis zum Stadium der Leerkapsel vor sich, worauf am Stäbchen, ebenso wie im ersteren Falle, die Bildung der eigentlichen Kapsel beginnt.

Man muß somit annehmen, daß die leeren Kapseln im Entwicklungsstadium des Mikroorganismus als Bett für die fortwachsenden widerstandsfähigen Sporen zum Zwecke einer besseren Ernährung derselben dienen.

Ebensolche Kapseln sieht man in großer Quantität auch bei der Formierung der Bacillen der 3. Generation. Wenn man ein Kaninchen durch die Bauchhöhle mit einer Milzbrandsporenkultur infiziert, so kann man nach 14–16 Stunden auf den aus der Milz gefertigten Ausstrichpräparaten vereinzelt kurze dicke Stäbchen ohne Kapsel und Massenaufreten von leeren Kapseln verschiedener Größe beobachten (Mikrophotogr. 4). In diesen Kapseln sieht man die fortwachsenden Sporen, die beim Zerfall der Kapselsubstanz in den allgemeinen Blutkreislauf gelangt sind.

Wenn man solche Sporen an der Impfstelle beobachtet, so kann man sich tatsächlich leicht überzeugen, daß letztere mittels der schleimigen Kapselsubstanz sich miteinander verketten, worauf die Formierung der sogenannten Leerkapsel vor sich geht (Mikrophotogr. 8 und 9). Die leeren Kapseln sind somit für das Fortwachsen der Sporen von großer Wichtigkeit, indem sie die Rolle eines vermittelnden osmotischen

Faktors zum Zwecke einer besseren Ernährung der zahlreichen Keime spielen.

Wenn man die Veränderungen dieser Sporen zu Lebzeiten und nach dem Tode des Tieres beobachtet, so gelangt man zu dem Schlusse, daß die Entwicklung derselben in dem einen und in dem anderen Falle verschiedener Natur ist. Zu Lebzeiten des Tieres wuchert die ganze Spore so, daß sie zunächst aufquillt, wobei sie noch die Fähigkeit behält, sich durch Methylenblau rötlich zu färben. Nach einiger Zeit verlängert sich die Spore und färbt sich leicht blau, während ein Körnchen derselben sich durch seine dunkelblaue Farbe scharf abhebt. Mit der Zeit verlängert sich dieses Körnchen zu einem feinen Strang. Bei der weiteren Entwicklung treten die Konturen des zukünftigen Gliedes deutlicher zutage; das letztere wird breiter und verlängert sich konusförmig. Zu dieser Zeit treten an der Peripherie desselben 2—3 dunkel gefärbte Granula aus, die augenscheinlich zur nachfolgenden Sporenbildung in den Kapseln in naher Beziehung stehen.

Aus diesen Beobachtungen geht klar hervor, daß jedes Glied im langen Faden aus einer einzelnen Spore entsteht und folglich seine eigene Existenz führt, indem es mit den übrigen durch mechanische Momente verbunden ist. In denjenigen Fällen, in denen die Glieder gemeinsam wachsen und in nahe Berührung miteinander kommen, erhält man im ersten Augenblick den Eindruck eines Stäbchens. Die nähere Untersuchung zeigt jedoch, daß dieses Stäbchen aus kurzen, mehr oder minder gleichmäßigen Gliedern besteht (Mikrophot. 10). Das Wachstum des jungen Stäbchens, welches sich immer dunkler und dunkler zu färben beginnt, geht so lange vor sich, bis es die ganze leere Kapsel ausgefüllt hat. Zu dieser Zeit wird das Stäbchen reif und beginnt sich eine eigene Kapsel zuzulegen, in der im Laufe der Zeit gleichfalls Sporen auftreten können (Mikrophot. 6).

Ist die Kette durch Sporengebilde einer Generation gebildet, so erhält der Faden ein gleichartiges Aussehen, widrigenfalls kann er einen eigenartigen interrupten Verlauf bekommen, da in die Kette nicht selten nicht nur vollkommen reife Stäbchen mit gut entwickelter Kapsel, sondern auch junge, kapselfreie Glieder, desgleichen fortwachsende Sporen mit sogenannter leerer oder Mutterkapsel sich einreihen können (Mikrophot. 3). Es entsteht dasjenige Bild von Kapseln verschiedener Generation, auf welche einige Forscher bereits hingewiesen haben.

Im ersten Augenblick scheint diese Aneinanderkettung verschiedenartiger Elemente etwas rätselhaft, bei der weiteren Entwicklung wird es jedoch klar, daß die ganze Verschiedenartigkeit bald verschwindet, da das Wachstum der jungen Glieder im Zusammenhang rasch vor sich geht, so daß die Kette auf diese Weise bald ihr gewöhnliches, gleichartiges Aussehen bekommt. Solche Bilder kann man am leichtesten an den Fäden der dritten Generation bei so wenig empfänglichen Tieren wie weiße Ratten verfolgen, in deren Organismus sämtliche Entwicklungsstadien sich langsam vollziehen und in Fällen von allgemeiner Infektion mit vollständigem Turnus der Bildung von jungen Stäbchen abschließen.

Ein anderes Bild wird schon in den ersten Stunden nach dem Tode des Tieres beobachtet: die Kapselsubstanz verschwindet rasch, sich gleichsam auflösend; um die Sporen herum entsteht ein leerer Raum in Form eines Reifens, der an der Peripherie etwas rötlich gefärbt ist. In der



Spore selbst geht das Wachstum auf Kosten des zentralen Chromatinkörnchens vor sich, welches nach der Teilung zu zwei feinen Stäbchen auswächst, welche sämtliche Eigenschaften der Kulturstäbchen aufweisen. Dieser Umstand ist eine Bestätigung dafür, daß die Kapselsubstanz für die Ernährung der Keime von Bedeutung ist, da die Beeinträchtigung dieser Momente zugleich zur Folge hat, daß nur die lebensfähigen Teile der Sporen fortwachsen. Die weitere Vermehrung dieser Bacillen vollzieht sich durch Teilung. Natürlich entstehen bei dieser Vermehrungsweise lange Fäden, welche das Unterscheidungsmerkmal der Kulturbacillen sind, während im tierischen Organismus die aus den fortwachsenden Sporen entstandenen Fäden stets kurz sind.

Als Versuchstiere wurden empfängliche Tiere verwendet: graue und weiße Mäuse, Kaninchen und Meerschweinchen, und zwar erstere für die subkutane, letztere für die intraabdominale Infektion.

Bei den Mäusen ist es an der Impfstelle leicht, die sukzessive Entwicklung der Kapsel, ihren Zerfall und das Auftreten von Bacillen dritter Generation, am häufigsten ohne Kapseln, zu verfolgen. An Kaninchen und Meerschweinchen kann man bei sukzessiver Untersuchung des Exsudates der Bauchhöhle sich überzeugen, daß gewöhnlich am zweiten Tage die Anzahl der Bacillen rasch abzunehmen beginnt. Diese Erscheinung kann man nur dadurch erklären, daß die jungen Keime durch das Lymphsystem massenhaft in das Blut übergehen, während die übrig gebliebenen Bacillen, nachdem sie ihre Kapseln eingeblüßt haben, rasch zugrunde gehen.

Dasselbe Bild kann man bei subkutaner Infektion so wenig empfänglicher Tiere wie weiße Ratten beobachten: Zunächst sieht man an der Impfstelle eine große Anzahl von Tierbacillen, aber schon am 3. Tage kommen sie in geringer Quantität vor, um schließlich ganz zu verschwinden. Wenn das junge Keimgeschlecht nicht zugrunde geht, so erscheinen in den inneren Organen der Ratte kurze und dicke Stäbchen, die, in großer Quantität auftretend, sich gleichfalls mit Kapseln versehen und im Endresultat das Tier töten. Sonst überwindet ein wenig empfänglicher Organismus die Infektion.

Bekanntlich ist es beim Menschen an der Infektionsstelle nach einiger Zeit gleichfalls nicht immer leicht, Bacillen zu finden, selbst wenn die Infektion eine allgemeine ist. Alle derartigen Erscheinungen kann man nur durch Ersatz des einen Geschlechtes durch ein anderes erklären, welches in das Blutsystem gelangt. Bei so empfänglichen Tieren wie Mäusen ist festgestellt, daß die Entfernung des Schwanzes mit der Impfstelle 5 Stunden nach der Infektion das Tier vor der Allgemeininfektion nicht mehr zu retten vermag, trotzdem die Bacillen im Blute erst kurz vor dem Tode nachgewiesen werden können. Dieses alte Experiment bestätigt den Gedanken, daß die junge Generation in diesen Fällen in das Blutsystem einzudringen vermochte, wo es eine gewisse Entwicklungsperiode durchmacht. Tatsächlich findet man im Blute tödlich infizierter Tiere zwischen den roten Blutkörperchen stets Streifen von Kapselsubstanz mit Sporen, welche nicht selten Zoogloen bilden. Im Blutstrom verleiht die Vereinigung dieser Keime zu Häufchen denselben besondere Widerstandsfähigkeit und schützt sie vor den bakteriziden Eigenschaften des infizierten Organismus.

Bei ganz unempfänglichen Tieren wie die Tauben werden kapseltragende Bacillen nicht beobachtet.



Im Lichte aller im vorstehenden geschilderten Momente läßt sich über die biologische Bedeutung der Kapseln bei den Milzbrandbacillen folgendes sagen: Die Bacillen versehen sich im tierischen Organismus sehr früh mit Kapseln, welche eine Modifikation der peripherischen Schicht des Ektoplasmas darstellen. Die Kapselbildung beginnt mit Aufquellung dieser Schicht und darauffolgender sukzessiver Modifikation derselben in Kapselsubstanz. Die zahlreichen Ektoplasmaestreifen, welche die Kapsel durchkreuzen, schaffen eine widerstandsfähigere Lage für das Schleimgebilde, indem zahlreiche Sporen reifen. Nachdem sie ihre vollständige Entwicklung erreicht, beginnt die Kapsel, welche sämtliche Eigenschaften eines Sporangiums besitzt, zu zerfallen und führt somit zur Massendissemination im infizierten Organismus. Diejenigen zahlreichen Keime, die zunächst an der Impfstelle auftreten und dann in das Blut übergehen, finden Unterstützung in der zerfallenen Kapselsubstanz, welche sich um die neugebildete Kette herum in Form einer sogenannten Leerkapsel formiert. Hier gehen die Reifung der Sporen und die Bildung der Stäbchen dritter Generation vor sich. Die leeren Kapseln erscheinen gleichfalls zu Beginn der Infektion und dienen als Bett für die wachsenden widerstandsfähigen Sporen zum Zwecke einer besseren Ernährung derselben. Bei der Bildung des Tierbacillus ist die ganze Spore an der Entwicklung des jungen Gliedes beteiligt, was durch die günstigen Ernährungsverhältnisse erklärt werden muß, welche mit den osmotischen Eigenschaften der zerfallenen Kapselsubstanz im Zusammenhang stehen. Nach dem Tode des Tieres geht diese Substanz endgültig in Zerfall über, was sich vor allem an der Entwicklung der Sporen bemerkbar macht, in denen nur der widerstandsfähigere Teil, nämlich der Zentralkern, zu einem feinen Stäbchen auswächst. Im weiteren Verlauf mehrten sich diese Bacillen, welche sämtliche Eigenschaften von Kulturbacillen aufweisen, durch Teilung. Dadurch unterscheiden sich die Tierbacillen von den Kulturbacillen.

#### Nachschrift.

Diese Arbeit war bereits beendet, als die Untersuchungen von Kodama und Toennissen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62 u. 65) erschienen sind. Dem ersteren der erwähnten Autoren ist es gelungen, Kapseln bei Milzbrandbacillen auf Agar mit einer Beimischung von Hühnereiweiß bei einer bestimmten Alkalinität des Nährmediums zu erhalten. Letzterer Umstand ist für die Gewinnung von Tierbacillenkulturen von großer praktischer Bedeutung. Der zweite Autor, der auf den wesentlichen Unterschied zwischen den Kapseln des Friedländer'schen Bacillus im tierischen Organismus und auf Kulturen hinweist, hat radiäre Streifung in den Kapseln dieses Bacillus beobachtet, was mit meinen Untersuchungen mit dem Milzbrandbacillus übereinstimmt.

#### Literatur.

- 1) Ascoli, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46.
- 2) Babes, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 20. 1895.
- 3) Bail, Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 43; u. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. H. 6.
- 4) Behring, Dtsche med. Wochenschr. 1891. No. 21.
- 5) — u. Much, Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 1.
- 6) Czaplewski, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892.
- 7) Deutsch, zit. nach Löhlein.





Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.

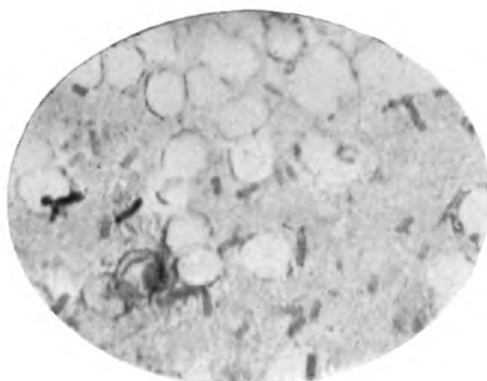


Fig. 4.

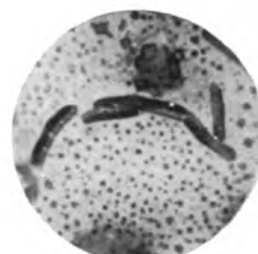


Fig. 5.



Fig. 6.

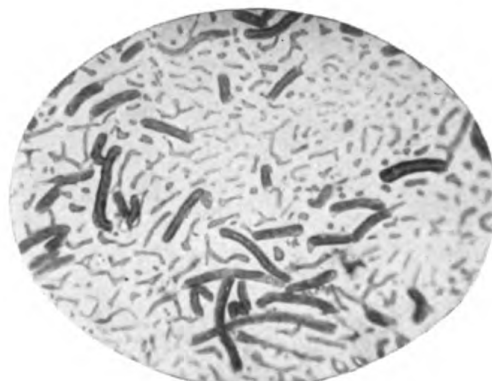


Fig. 7.



Fig. 8.



Fig. 9.



Fig. 10.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

- 8) Donati, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 5. 1910.
- 9) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. H. 4. u. Bd. 49. H. 4.
- 10) Fischöder, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. H. 4.
- 11) Galli-Valerio, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. H. 2.
- 12) Gruber u. Futaki, München. med. Wochenschr. 1907. No. 6; Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 39.
- 13) Hamm, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. H. 3.
- 14) Heim, München. med. Wochenschr. 1904. No. 10.
- 15) Kern, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 22.
- 16) Koch, Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheits-amt. Bd. I.
- 17) Kühnemann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. H. 6.
- 18) Levaditi et Inman, Compt. rend. hebdom. de la Soc. de Biol. T. 62. 1907.
- 19) Lingelsheim, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 42.
- 20) Löhlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. Beilage.
- 21) Lubarsch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 6.
- 22) Marx, Dtsche med. Wochenschr. 1900. No. 38.
- 23) Nuttall, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4.
- 24) Pane, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 24.
- 25) Petruschky, Zieglers Beitr. Bd. 3. 1888.
- 26) Podwyssotski, W. W. u. Taranuchin, W. A., Russki Arch. Pathol. 1898. H. 5; Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 5. 1898.
- 27) Preisz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. H. 3.
- 28) Tiberti, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 31. H. 1.
- 29) Zettnow, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 21, 24, 30.

#### Erklärung der Mikrophotogramme.

Fig. 1. Ausstrichpräparat aus dem Blute einer Maus unmittelbar nach dem Tode des Tieres. Milzbrandbacillus, in dessen Kapsel man Querstreifung sieht.

Fig. 2. Ausstrichpräparat 5 Stunden nach subkutaner Infektion der Maus. An dem einen Faden sieht man eine leere Kapsel, an dem anderen zwischen Gliedern helle Querstreifung, die sich auch auf die Kapsel erstreckt.

Fig. 3. Ausstrichpräparat 36 Stunden nach subkutaner Infektion einer weißen Ratte. Leerkapsel in der Mitte des Fadens; man sieht in derselben ein Chromatinkörnchen (keimende Spore).

Fig. 4. Ausstrichpräparat aus der Milz eines Kaninchens 16 Stunden nach der Infektion der Bauchhöhle mit einer Sporenagarkultur. Man sieht zahlreiche Leerkapseln und 2 Stäbchen ohne Kapseln (3. Generation).

Fig. 5. Ausstrichpräparat 17 Stunden nach subkutaner Infektion einer weißen Ratte. Man sieht Stäbchen mit gut entwickelten Kapseln. In dem einen treten ungefärbte Sporen deutlich hervor.

Fig. 6. Ausstrichpräparate 48 Stunden nach subkutaner Infektion einer weißen Ratte. In der engen Kapsel der neugebildeten Kette sieht man eine gefärbte Spore und mehrere ungefärbte Sporen. Auf einem anderen Faden sieht man eine leere Kapsel.

Fig. 7. Ausstrichpräparat 15 Stunden nach subkutaner Infektion einer Maus. Vollständiger Zerfall der Kapseln.

Fig. 8. Ausstrichpräparat 24 Stunden nach subkutaner Infektion einer weißen Ratte. In der Nähe der Stäbchen mit engen Kapseln sieht man eine leere Kapsel mit keimenden Sporen.

Fig. 9. Eine leere Kapsel aus derselben Serie von Ausstrichpräparaten mit gefärbten Sporen.

Fig. 10. Ausstrichpräparat 36 Stunden nach subkutaner Infektion einer weißen Ratte. Man sieht eine Kette mit breiter Kapsel, an der einzelne kurze Glieder mit konusähnlichen Enden deutlich zu sehen sind.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber experimentell erzeugtes Magensarkom bei der Ratte.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes zu Berlin-Dahlem.]

Von Dr. Heinrich Citron.

Mit 1 Tafel und 6 Textfiguren.

Im ersten Heft des 15. Jahrgangs der Zeitschrift für Immunitätsforschung habe ich in einer Arbeit aus der experimentellen biologischen Abteilung des pharmakologischen Instituts zu Berlin, ein Verfahren beschrieben, das es ermöglichte, Mäusecarcinom in den Magen von Mäusen zu implantieren und daselbst Tumoren hervorzurufen<sup>1)</sup>. Es war nun von Interesse, das Verfahren auch auf andere Tumoren und andere Tierspecies zu übertragen und auf diese Weise die gesetzten Veränderungen zu studieren. Die Versuche, über die an dieser Stelle berichtet werden soll, wurden mit einem Spindelzellensarkom der Ratte angestellt, welches seit einer Reihe von Jahren in der bakteriologischen Abteilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes ununterbrochen fortgezüchtet wird. Der Eingriff, welchem 63 Tiere unterworfen wurden, gestaltete sich ähnlich, wie ich es seiner Zeit für die Maus beschrieben habe; mehrfachen Anfragen zu genügen, will ich es an dieser Stelle an der Hand einiger Abbildungen nochmals erläutern. Die Tiere wurden unter einem

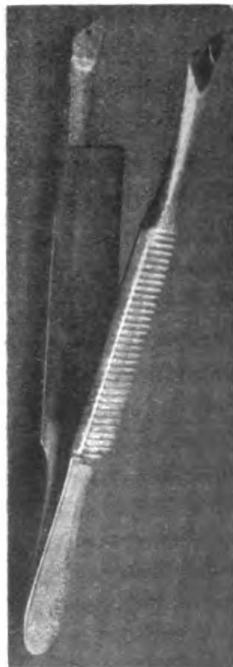


Fig. 1.

mit Aether getränkter Watte gefüllten Trichter narkotisiert, dann auf einem Korkbrett mittels der von mir angegebenen Klammern aufgespannt. Diese Klammern<sup>2)</sup> bestehen aus hölzernen Haltern, wie sie zum Trocknen von Filmen gebraucht werden. Die Branchen sind mit geripptem Gummischlauch überzogen, das Gelenk von einem starken, gut federnden Gummiring umgeben. An der unteren Fläche ist ein kräftiger, ca. 2 cm langer spitzer Nagel fest eingelassen. Die Tiere werden mittels der Zange an den Extremitäten gefaßt, die Nägel in das Korkbrett eingespießt. Man erzielt so selbst bei kräftigen Ratten eine unbedingt sichere Fixierung der Tiere, ohne dieselben in der geringsten Weise zu verletzen. Die linke obere Bauchgegend wird nun mit Alkohol abgewaschen, ein kleiner Einschnitt durch das Fell gemacht und stumpf erweitert. Bauchdecken und Peritoneum werden der Länge nach mit einem kleinen Schnitt durchtrennt. Der linke Leberlappen wird sichtbar, unter ihm liegt der Magen. Dieser wird hervorgezogen und mittels der von mir angegebenen Zange festgehalten. Ich benutze dazu eine Pinzette, wie sie von den Ophthalmologen zur Fixierung des Bulbus verwendet

1) Friedberger (Verhandl. d. fr. Vereinigung f. Mikrobiol. Berlin 1913) gelang die Erzeugung von Carcinomen in inneren Organen durch Injektion von Tumorsuspensionen in die Schwanzvene.

2) Hergestellt von F. u. M. Lautenschläger.

wird, eine Art Balkenzange mit schräg gestellten Armen; die untere Kante ist mit einem Kerb versehen<sup>1)</sup>. Bei geschlossener Zange entsteht so ein halbkreisförmiger Kanal. Ist der Magen zwischen die Branchen gefaßt, so kann er durch diesen Kanal mit einer kapillar ausgezogenen Glasröhre durchstoßen werden. In die Glasröhre wird zuvor ein Catgutfaden eingeführt und fein zerkleinertes Tumormaterial eingefüllt. Hat man die Kapillare durch den Spalt der Zange hindurchgestochen, so bricht man die Spitze ab, erfaßt den Faden und zieht ihn nach der einen die Glasröhre nach der anderen Seite<sup>2)</sup>. Auf diese Weise wird die im Magen gesetzte Wunde mit dem am Catgutfaden haftenden Tumor-Material infiziert. Der Faden wird kurz abgeschnitten und einmal geknüpft. Hierauf wird die Bauchwunde fest geschlossen. Einen sehr schnellen und guten Verschuß erzielt man, wenn man die beiden Wundränder zwischen die Branchen der Balkenzange faßt und durch den Kerb die einen Seidenfaden enthaltende Kanüle einer Pravaz-Spritze hindurchsticht<sup>3)</sup>.

Die Zange wird abgenommen, die Kanüle herausgezogen und der Faden geknüpft. Zu einem exakten Verschuß der Bauchwunde gehören zwei bis höchstens drei Nähte. Ein Beweis für die Zuverlässigkeit der Naht ist der Umstand, daß wir nur in drei Fällen ein Aufgehen derselben beobachteten. In fünf Fällen hatten wir Bauchbrüche zu verzeichnen, die aber ohne üble Folgen blieben. Ueberhaupt war der Eingriff für die Ratten auffallend geringfügig. Während ich bei Mäusen von 103 Tieren in den ersten 14 Tagen 52 gleich 50 Proz. verlor, betrug die Mortalität bei den Ratten im ganzen nur 4 Tiere von 63 gleich 6,3 Proz.

Was den Ort der Einimpfung betrifft, so war hierbei zu berücksichtigen, daß der Magen der Ratte aus einem Drüsen- und einem Plattenepithelmagen besteht<sup>4)</sup>. Der Drüsenteil ist zur rechten, also vom Oesophagus pyloruswärts, der Plattenepithelteil zur linken, also funduswärts

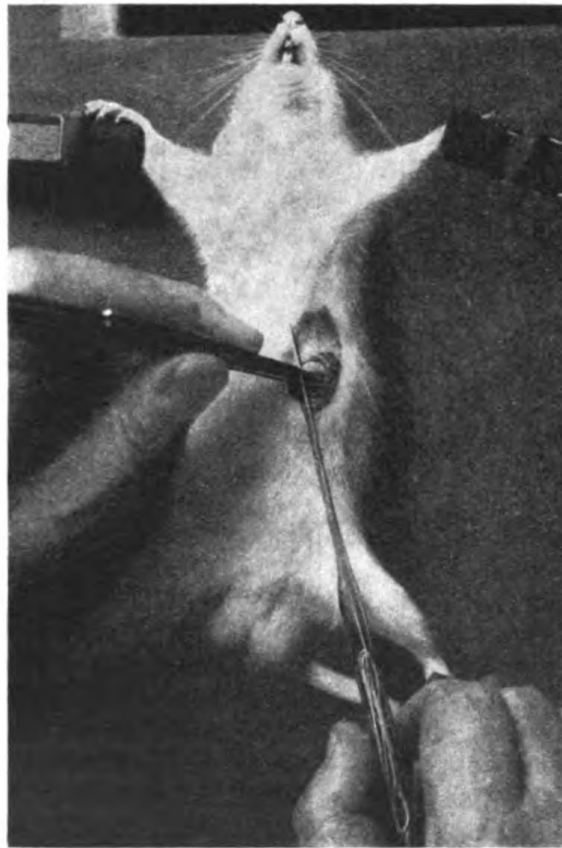


Fig. 2.

1) Textabbildung 1 (angefertigt von L. u. H. Loewenstein, Berlin).

2) Textabbildung 2.

3) Textabbildung 3.

4) Abbildung (Mikrophotogramm) 4, stellt einen Schnitt aus dem Drüsenmagen dar. Eine Abbildung des Plattenepithelmagen findet sich auf Tafel.

gelagert. Wir führten die Impfung in 58 Fällen an der Uebergangsstelle zwischen Drüsen- und Plattenepithel des Magens aus, in 5 Fällen weiter links in den Fundus hinein. Ueber den Erfolg des Eingriffs gibt die Tabelle Aufschluß, enthaltend die Resultate bei 14 Impfserien. Es

Serie	Anzahl der operierten Tiere	Positiv	Zeit, in welcher Tumor nachweisbar wurde	Lebensdauer	fr. HCl bei Magen-tumoren	fr. HCl bei Normal-temperatur
I	2	1	nach 7 Tagen: 1	11 Tage: 1 überlebend: 1	0:1	
II	3	0	—	5 Tage: 1 3 Wochen: 1 überlebend: 1		
III	1	1	9 Tage	überlebend		
IV	2	0	—	8 Tage: 1 überlebend: 1		+ : 1
V	5	3	21 Tage: 3	überlebend: 5		+ : 1
VI	5	3	21 Tage: 3	überlebend: 5		0:1
VII	5	0	—	überlebend: 5		+ : 1
VIII	5	1	42 Tage: 1	überlebend: 5		+ : 1
IX	5	1	19 Tage: 1	überlebend: 4 am 21. Tage: 1 † überlebend: 10	0:1	0:1
X	10	9	14 Tage: 1 18 Tage: 1 21 Tage: 7		0:4	
XI	5	2	3 Wochen: 2	überlebend: 5	0:1	
XII	5	3	17 Tage: 3	überlebend: 5	+ : 1	
XIII	5	0	—	3 Tage: 1 überlebend: 4		
XIV	5	1	18 Tage: 1	überlebend: 4 3 Tage: 1		
	63	25	Innerh. 7 Tage: 1 8—14 Tage: 2 15—21 Tage: 22 42 Tage: 1	3 Tage: 2 4—11 Tage: 2 überlebend: 59 (3 Wochen und länger)	0:8 + : 1	0:2 + : 5

ist daraus ersichtlich, daß ein positiver Erfolg Entwicklung eines Tumors im Magen an der Impfstelle, in 25 Fällen gleich 40 Proz. stattgefunden hat. Die einzelnen Impfserien fallen dabei in ganz verschiedener Weise aus. Nicht weniger als 5 Serien sind vollkommen negativ verlaufen. Gewöhnlich betrug die Ausbeute ca. 25 Proz. Nur in Serie 10 wurde eine solche von 90 Proz. erzielt. Ein Unterschied in bezug auf den Erfolg der Impfung zwischen intraperitoneal und subkutan gewachsenen Tumoren konnte nicht festgestellt werden. Was die Zeit der Entwicklung der Tumoren im Magen anbetrifft, so konnte dieselbe der tiefen Lage wegen natürlich nur durch Palpation festgestellt werden. Die Tiere wurden vom 5. Tage ab regelmäßig, mindestens dreimal wöchentlich untersucht. Nur in einem Falle konnte schon nach 7 Tagen ein Tumor gefühlt werden. In der zweiten Woche wurden 2 Tumoren diagnostiziert. Der Hauptanteil entfällt auf die dritte Woche, in der 22 Tumoren festgestellt wurden. In einem Falle wurde erst nach 6 Wochen ein Tumor gefunden.

Ich komme nun zu der Einwirkung des Eingriffes auf die Ratte selbst. Die unmittelbare Reaktion ist eine außerordentlich geringe. Innerhalb der ersten 3 Tage sind nur 2 Tiere zugrunde gegangen, vom 4.—11 Tage gleichfalls 2. Die übrigen haben mehr oder minder lange den Eingriff überlebt und sind entweder nach einer Reihe von Wochen an Kachexie



zugrunde gegangen oder behufs der Feststellung des Befundes getötet worden. Es entfällt also auf den Eingriff selbst bei weitester Berechnung nur eine Mortalität von 4 auf 63 gleich 6,3 Proz. In vollem Gegensatz hierzu steht die Mortalität bei Mäusen, die, wie erwähnt, nicht weniger als 50 Proz. in den ersten 14 Tagen betrug.

Im allgemeinen werden die Tiere kachektischer als die mit Subkutan und auch mit intraperitonealen Tumoren behafteten. Werden mehrere mit Marken versehene Tiere einer Serie in einem Topf zusammen gehalten, wie es anfänglich geschah, so kam es häufig vor, daß einzelne Tiere von den anderen aufgefressen wurden. Wir waren daher in der Folge genötigt, die Tiere einzeln in Gläsern aufzubewahren.

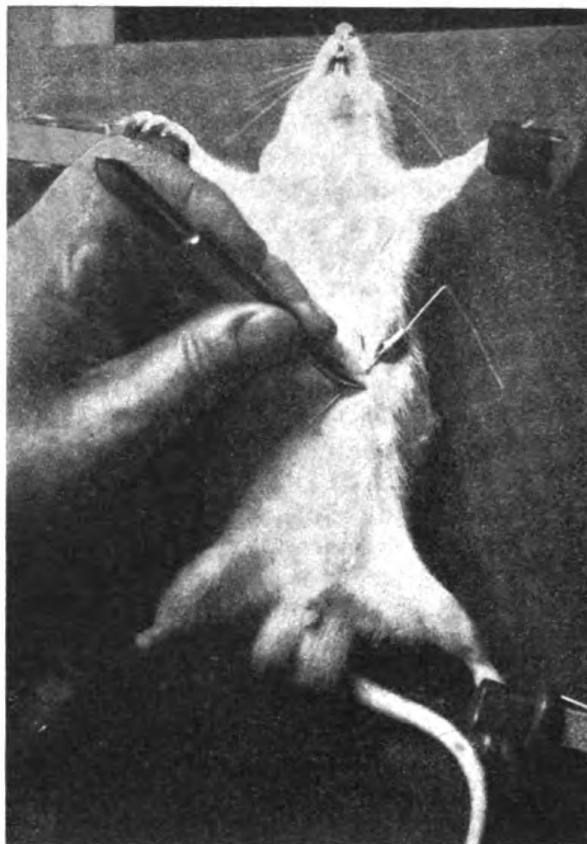


Fig. 3.

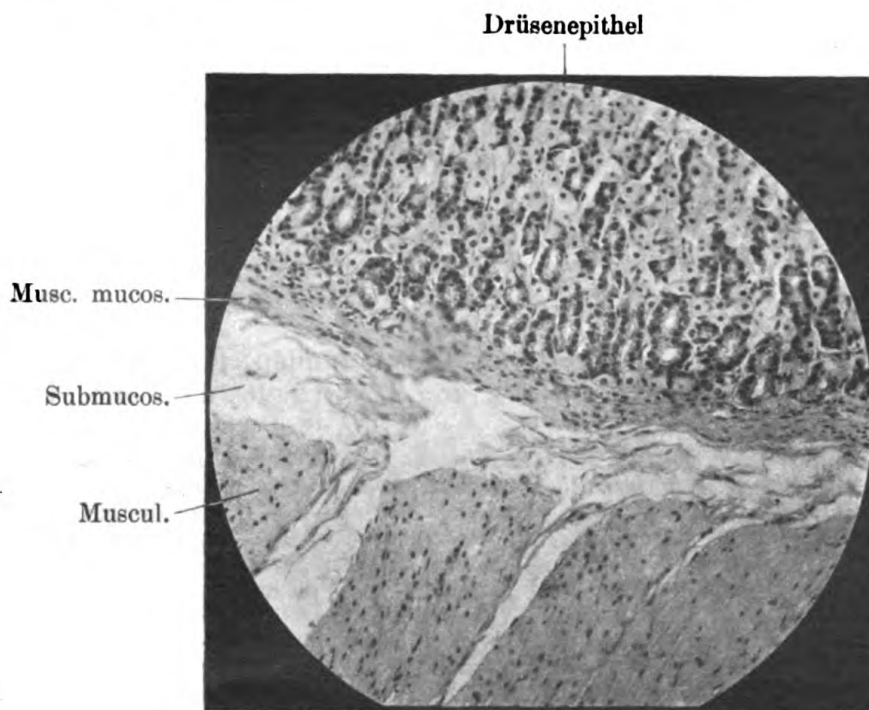


Fig. 4.



Bekanntlich hat das menschliche Magencarcinom in der übergroßen Mehrzahl der Fälle schon frühzeitig ein Verschwinden der freien Salzsäure im Magensaft zur Folge. Meine Versuche an Mäusen ergaben seiner Zeit<sup>1)</sup>, daß Tiere mit Magencarcinom häufiger freie Salzsäure vermissen ließen, als normale Tiere. Es war allerdings hierzu notwendig, den Kunstgriff der Scheinfütterung anzuwenden. Bei gewöhnlicher Ernährung wurde auch bei normalen Mäusen fast regelmäßig die freie Salzsäure im Magen vermißt. Erst als wir die Tiere über Nacht ohne Nahrung ließen und am nächsten Morgen durch vorgehaltenen Speck reizten, erzielten wir positive Salzsäurebefunde bei normalen Tieren, während bei Magenkarzinom-Tieren dieselbe relativ häufig fehlte. Bei unseren Ratten gelang es nicht, Scheinfütterung auszulösen, da die Tiere offenbar zu indolent waren. Ich kann daher die Befunde nur so wiedergeben, wie sie sich bei gewöhnlicher Fütterung (mit Hundekuchen) gestalteten. Hierbei erzielten wir in 9 Fällen von Magensarkom bei Ratten nur einmal positiven Salzsäurebefund, nachgewiesen durch Blaufärbung von Kongopapier. Hingegen hatten wir bei 7 in gleicher Weise ernährten unter gleichen Bedingungen gehaltenen normalen Kontrolltieren 5mal positiven, 2mal negativen Befund. Es scheint demnach, daß das Sarkom bei der Ratte einen Schwund der freien Salzsäure im Magen hervorruft. Tiere mit subkutanen und intraperitonealen Tumoren zeigen ganz gleiches Verhalten wie normale Tiere.

Die am Magen der Ratten sitzenden Tumoren sind bei einiger Größe von außen relativ leicht fühlbar. Bei geöffneter Bauchhöhle bilden sie weißliche Geschwülste, die mehr oder minder große Teile des Magens einnehmen. Metastasenbildung der Leber, die ich bei Verimpfung von Mäusecarcinom in den Mäusemagen ziemlich häufig beobachten konnte, fehlte in unseren Fällen gänzlich. Auch in anderen Organen waren makroskopische Metastasen nicht nachweisbar. Mir scheint dieser Befund von einiger Wichtigkeit zu sein zur Würdigung der Befunde bei der Maus, gegen die hätte eingewendet werden können, daß es bei den verschiedenen Manipulationen zur Absprengung von Geschwulstteilen in benachbarte Organe komme, somit die Entstehung von Metastasen der Technik ihren Ursprung verdanke. Da bei der Ratte unter sonst ganz gleichen Bedingungen eine Metastasenbildung vollständig fehlte, so glaube ich, daß auch dies dafür spricht, daß es sich in den bei den Versuchen mit Mäusecarcinom beobachteten Fällen um eine natürliche Metastasenbildung gehandelt hat. Ein Uebergreifen des Ratten-Magensarkoms auf die Leber durch einfaches Ueberwuchern konnten wir dagegen in mehreren Fällen beobachten.

Ich komme nun zu den mikroskopischen Befunden, für deren Durchsicht ich den Prosektoren Prof. Pick und Dr. Hart zu großem Dank verpflichtet bin.

Der Schnitt (Fig. 5) ist aus der Mitte eines Magentumors entnommen. Wir sehen einen rundlichen Knoten, der aus charakteristischem Geschwulstgewebe besteht. Es handelt sich um kleine, deutlich ausgesprochene Bündel von Zellen, die sich in den verschiedensten Richtungen durchflechten. Zwischen den Zellen findet sich spärliche homogene Interzellulärsubstanz. Bündel und Zellen sind ihrer regellosen Durchflechtung entsprechend in verschiedenen Richtungen getroffen. Unbeschadet einer gewissen Polymorphie der Zellen ist vorherrschend der Typus der Spindelzellen. Die Kerne sind auf dem Längsschnitt teils ellipsoid, teils abgerundet, auch rundlich, die größeren mehr bläschenförmig mit zahlreichen Chromatinkörnchen. Kleinere Kerne sind mehr stäbchenförmig, chromatinreicher und dunkler gefärbt. Reichliche Kernteilungsfiguren kommen

1) l. c.





M. Landsberg fec. Leitz Oc. 4. Obj. 1

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. A. Giltisch, Jena.



zur Beobachtung. An wenigen Stellen sind kollabierte Kapillaren sichtbar. Am Rande des Tumors bemerkt man eine rundzellige Reaktionszone, in deren Bereich eine zirkuläre mehrschichtige Lage von ausgereiftem Spindelzellentyp (keine Geschwulstzellen) liegt. Im Innern dieses Ringes neben einer Anzahl runder und ovaler heller Kerne liegen zwei große syncytiale Riesenzellen. Entsprechend diesem Herd liegt tiefer im Tumor ein analoger Herd. Hier und da finden sich Nekrosen.

Es geht hieraus hervor, daß der im Magen gewachsene Tumor vollkommen den Charakter des primären Spindelzellensarkoms trägt. Die helle Stelle mit den Riesenzellen ist als Einschluß von Fremdkörpermaterial, wahrscheinlich des verimpften Catgutfadens aufzufassen.

Das Verhältnis des Tumors zur Magenwand wird ersichtlich aus dem Bild auf der Tafel Abbildung 1. Man sieht wie die Muscularis mucosae als sichtbares Band schwindet, von aus der Tiefe wuchernden Tumorzellen durchsetzt und zerstört wird.

Tumorzellen, die untermischt sind, mit entzündlichen Rundzellen, dringen bis unter das Plattenepithel vor, das einmal atrophisch wird und eine gegen die Norm stark verdünnte Schicht bildet, andererseits aber lange schmale sich verzweigende papilläre und zungenförmige Ausläufer in die Tiefe schickt, welche die Muscularis mucosae aber, soweit sie erhalten ist, nicht überschreiten.

Ein anderes Bild aus einem Magentumor zeigt Abbildung 2 der Tafel. Der Tumor dringt bis zur ödematösen, aufgelockerten und von entzündlichen Rundzellen durchsetzten Submucosa vor, gegen die er mit scharfer Grenze abschneidet. Von der Muscularis ist nur noch an einer Stelle ein Rest zu erkennen. Das Epithel

ist hier normal, reaktionslos. In diesem Präparat ist von den papillären und zungenförmigen Ausläufern nichts zu erkennen.

Abbildung 3 der Tafel zeigt die normale Wand des Platten-Epithelmagens. Auch hier ist von den erwähnten zungenförmigen Gebilden nichts zu sehen.

Das Vordringen des Tumors in der Leber illustriert Text-Abbildung 6. Wir sehen am Rande des Tumors eine schmale reaktive Rundzellenzone. Der Tumor grenzt im Bereich dieser reaktiven Zone in scharfer Linie an das Lebergewebe, gegen das er es komprimierend vorwächst, ähnlich wie bei manchen menschlichen Lebermetastasen. Im normalen Lebergewebe findet sich in der Nähe des Tumors ein Einschluß von Leukocytenhaufen.

Eine Erkrankung des Drüsenmagens haben wir nirgends finden können. Die Impfungen fanden, wie erwähnt, stets aus technischen Gründen in den Platten-Epithelteil des Magens hinein statt. Es wäre von Interesse, gelegentlich solche in den Drüsenmagen hinein vorzunehmen und die etwa danach aufgetretenen Ausfallserscheinungen näher zu prüfen.

Fassen wir die Erfahrungen zusammen, die sich aus den wiedergegebenen Versuchen ziehen lassen, so ergibt sich, daß es mittels der

Einschluß

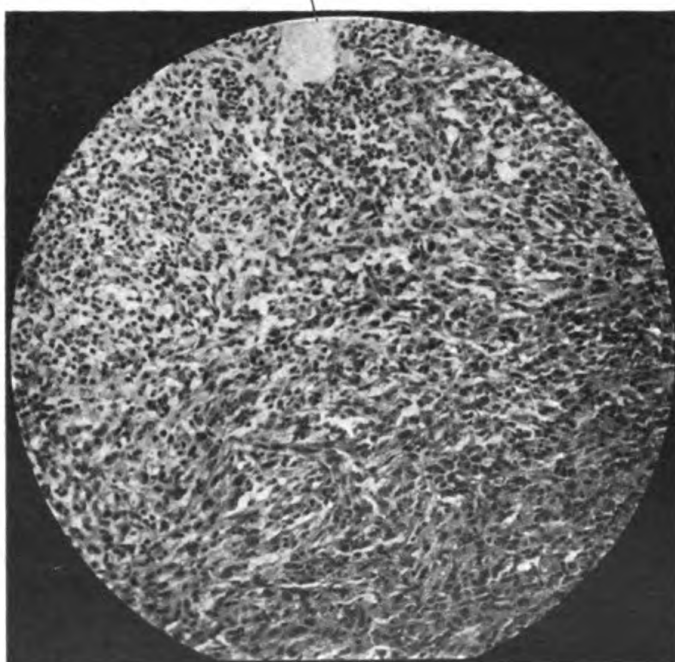


Fig. 5.

bei der Maus erfolgreich bewährten Methode bei der Ratte gleichfalls gelingt, Tumoren in den Magen zu implantieren und daselbst zur Fortentwicklung zu bringen. Ein gewisser Fortschritt gegenüber der Entwicklung von Magentumoren bei der Maus kann darin gesehen werden, daß nunmehr die Erkrankung auch bei einem größeren und wie unsere Versuche zeigen, erheblich widerstandsfähigeren Tiere hervorgerufen werden kann. Der Zukunft wird es vorbehalten bleiben, weitere Versuche an größeren Tieren zu machen, sobald erst die Züchtung solcher Tumoren z. B. beim Kaninchen mit größerer Sicherheit wird stattfinden können.

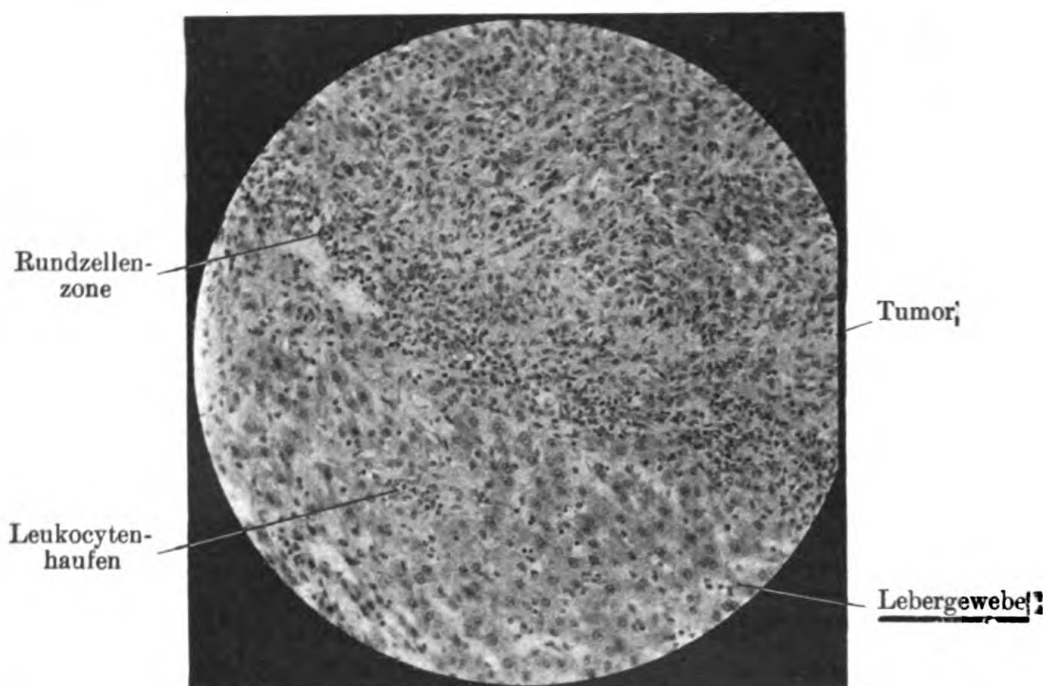


Fig. 6.

Bei der Durchsicht der histologischen Befunde muß die Wucherung des Platten-Epithels, die beschrieben und abgebildet ist, auffallen. Ob sie als reaktiver Prozeß des Platten-Epithels gegen den Reiz des Tumors aufzufassen sind, will ich dahingestellt seinlassen. Wir geben den Befund als solchen ohne näheren Kommentar. Das Verhalten der freien Salzsäure legt die Vermutung nahe, daß bei dem Magentumor der Ratte eine schädigende Einwirkung auf die wichtigste Funktion des Organs ebenso wie beim Menschen eintritt. Das Magensarkom der Ratte kann in hohem Maße als eine Geschwulstart bezeichnet werden, die fortschreitend unter Zugrundegehen des normalen Gewebes wächst und daher in vollem Maße den Namen einer malignen Neubildung verdient.

Für die gütige Gewährung eines Arbeitsplatzes erlaube ich mir, dem Herrn Präsidenten des Kaiserlichen Gesundheitsamtes meinen ergebensten Dank auszusprechen.

*Nachdruck verboten.*

## Beobachtungen und Studien über die Metastasenbildung beim Mäusekrebs<sup>1)</sup>.

[Aus dem Königl. Hygienischen Institut der Universität Breslau.  
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer.)]

Von Dr. Harry Koenigsfeld, Assistenten des Instituts.

Mit 4 Tafeln.

Immer wieder wird von manchen Pathologen, besonders von v. Hansemann, die Ansicht vertreten, daß jede Analogie der Mäusegeschwülste mit der Krebskrankheit des Menschen abgelehnt werden müsse und daher im Versuch an Mäusen gewonnene Resultate keineswegs für die menschliche Pathologie Geltung haben. Als Hauptunterschied wird angeführt, daß die Mäusegeschwülste nicht infiltrierend wachsen und keine Metastasen bilden.

Wenn man bedenkt, daß die experimentellen Mäusekrebse fast ausschließlich durch subkutane Impfung fortgepflanzt werden, wobei sie in dem lockeren Raume zwischen Epidermis und Muskulatur zur Entwicklung kommen, der ihrem Wachstum so gut wie gar keinen Widerstand entgegensetzt, ist es begreiflich, daß ein deutliches infiltratives Wachstum nicht beobachtet werden kann. Anders liegen die Verhältnisse, wenn die Tumorigmpfung in das Innere parenchymatöser Organe (Leber, Milz, Hoden, Niere) vorgenommen wird, die dem Wachstum der Krebszellen einen erheblichen Widerstand entgegensetzen. Hier kann, wie aus Versuchen von Stumpf und aus neuerer Zeit von Isaac Levin hervorgeht, ein deutliches infiltratives Wachstum wahrgenommen werden. Auch Keysser sah in einer eben veröffentlichten Arbeit bei Tumorigmpfung in Organe infiltrierendes Wachstum. Doch auch bei subkutaner Tumorigmpfung hat Henke durch mikroskopische Untersuchung an den Randstellen der Geschwulst ein infiltratives Wachstum nachgewiesen. Wir haben ebenfalls im Verlaufe unserer Tumorigversuche einige Male ein infiltrierendes Wachstum in die Brustmuskulatur mit Arrosion der Rippen gesehen.

Auch aus Metastasenbildung kann man auf ein infiltrierendes Wachstum des Primärtumors schließen, da nur bei solchem ein Einbruch des Tumorgewebes in die Lymph- und Blutgefäße und eine Verschleppung von Tumorzellen möglich ist.

Freilich sind die Beobachtungen über Metastasenbildung bei Tiergeschwülsten ganz vereinzelt, trotz der heute schon schier unübersehbaren Literatur über experimentelle Krebsforschung. Besonders selten wurden bei Spontangeschwülsten makroskopische Metastasen gefunden. Am häufigsten beobachtete sie Murray, bei 68 Spontantumoren 16mal, und zwar handelte es sich um Lungenmetastasen, 3mal waren auch noch die Lymphdrüsen befallen. Apolant sah unter dem Frankfurter Material von 221 Spontantumoren nur 6mal Metastasen, und zwar 5mal in den Lungen, 1mal in Lunge, Leber und Milz. L. Michaelis beobachtete einmal eine Lymphdrüsenmetastase und auch Borrel und Haaland

1) Die Mittel für die Untersuchungen wurden von der Baildon-Stiftung zur Verfügung gestellt.

sahen einmal Metastasen. Jensen dagegen fand niemals Metastasierung, ebenso Wrzosek unter 25 Spontantumoren nicht.

Oefter als makroskopisch sichtbare Metastasen finden sich, wie Borrel und Haaland nachweisen konnten, in den Lungen mikroskopische Metastasen. So sah z. B. Haaland unter 11 Mäusen des Frankfurter Instituts mit Spontantumoren 4mal mikroskopische Lungenmetastasen.

Auch Murray fand bei seinen 68 Spontantumoren außer den 16 makroskopisch sichtbaren in 11 Fällen mikroskopische Lungenmetastasen.

Bei geimpften Tieren sind Metastasen ebenfalls selten beobachtet. Jensen fand sie nie. Michaelis sah einmal Lungenmetastasen, Haaland 5mal Metastasen in der Lunge, einmal im Pankreas. Levin und Sittenfield beobachteten unter 100 subkutanen Impfungen einmal eine Metastase in der Leber. Apolant sah Metastasen ausschließlich bei einem Stamme, hier aber nur in den Lungen, und zwar in 3—30 Proz. der geimpften Tiere. Doch verschwand dieses Phänomen nach der 20. Generation vollkommen, wofür Apolant keine Erklärung geben kann.

Relativ häufig tritt Metastasierung bei dem Lewinschen Rattentumor auf. Lewin beobachtete fast in jeder Impfgeneration makroskopische Metastasen, und zwar in allen Organen. Auch Flexner und Jobling sahen bei ihrem Rattentumor öfter Metastasen.

Unsere eigenen Beobachtungen über das spontane Auftreten von Metastasen bei Krebsmäusen sind die folgenden.

Wir arbeiten hauptsächlich mit 3 Tumoren, die die Bezeichnungen IIIa, V und Br. führen. Die Tumoren IIIa und V wurden uns freundlichst von Herrn Prof. Apolant in Frankfurt a. M. zur Verfügung gestellt und von uns weiter gezüchtet. Es handelt sich in beiden Fällen um Carcinome von sehr erheblicher Virulenz, die fast stets in 100 Proz., nie unter 90 Proz. eine Impfausbeute ergeben. Der Tumor Br. ist ein Spontantumor, den uns liebenswürdigst Herr Prof. Brieger in Breslau übergab. Nach einer Impfausbeute von 10 Proz. bei der ersten Ueberimpfung haben wir die Virulenz des Tumors allmählich durch elektive Impfung bis auf 90—100 Proz. gebracht.

Mit Ausnahme der beiden ersten Uebertragungen des Tumors Br., bei dem bei der Hälfte der Tiere Stückchenimpfung angewandt wurde, geschah die Impfung immer mit einer Emulsion der zerkleinerten Tumoren in Kochsalzlösung. Die Menge des eingepfunden Geschwulstmaterials war immer etwa gleich groß (ca. 0,1—0,15 g in 0,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung). Die Impfung wurde immer subkutan an der rechten Flanke vorgenommen.

Bei dem Tumor IIIa beobachteten wir in ca. 1½ Jahren bei etwa 900 Impfungen nur 3mal Metastasen, und zwar fanden sich in 2 Fällen Krebsknötchen in Peritoneum, Herz und Leber, in dem dritten nur im Mesenterium. Nachdem der Tumor schon sehr viele Passagen durchgemacht hatte, ergab plötzlich eine am 4. August 1913 vorgenommene Impfung unter 20 Tieren 7mal Metastasen, und zwar 4mal Lungenmetastasen, 2mal Lungenmetastasen und Metastasen in der Bauchhöhle und 1mal Metastasen der Bauchhöhle allein.

Bei Tumor Br. wurden in 7 Generationen bei ca. 140 Impfungen nie Metastasen gefunden. Bei der 8. Generation traten unter 20 Mäusen plötzlich 4mal Metastasen auf, und zwar handelte es sich um Knötchen in Netz, Nieren und Leber, 1mal auch an der inneren Brustwand. Bei

einer späteren Impfung von 40 Tieren traten bei 2 Tieren Metastasen in der Bauchhöhle, bei einem Tier Lungenmetastasen auf.

Der Tumor V wurde bisher ca. 1000mal verimpft. Gleich die erste Ueberimpfung ergab unter 20 Tieren 2mal Metastasen, und zwar waren 1mal zahlreiche Knötchen im Peritoneum und 1mal drei etwa stecknadelkopfgroße Knötchen in der Lunge vorhanden. Bei der zweiten und dritten Impfgeneration nahm die Zahl der Metastasen stark zu, ca. 60 Proz. der geimpften Tiere wiesen Metastasen auf. Etwa gleich oft wurden Metastasen in den Lungen und in der Bauchhöhle gefunden. Leber und Nieren waren einige Male vollständig von dem Krebsgewebe durchwachsen, so daß nur noch wenig normales Gewebe vorhanden war. Einige Male war Bauch- und Brusthöhle ganz von Metastasen erfüllt, dann wies gewöhnlich auch das Zwerchfell zahlreiche kleine Knötchen oder eine größere flächenhafte infiltrative Verdickung auf. Oft fand sich bei Metastasen in der Bauchhöhle eine blutige seröse Flüssigkeit im Abdomen, ganz gleich wie es bei der Peritonealcarcinose des Menschen beobachtet wird. In 2 Fällen wurden etwa pfefferkorngroße, derbe Lymphdrüsen in der Achselhöhle und Inguinalfalte der der Impfung entgegengesetzten Seite beobachtet. Auf dem Durchschnitt wiesen die Drüsenknoten dasselbe Bild wie der Tumor auf.

Von der 4. Impfgeneration an nahm die Häufigkeit der Metastasenbildung plötzlich ab. In der 5. Generation zeigten unter 12 Mäusen nur noch 2 Metastasen. Mehrere Generationen hindurch wurden dann überhaupt keine Metastasen beobachtet. Dann traten in der 11. Generation 1mal unter 10 geimpften Tieren Lungenmetastasen auf. Seitdem wurden ab und zu noch Metastasen beobachtet, doch im ganzen unter 470 Impfungen nur 27mal, davon bei einer Impfung am 15. August 1913 unter 30 Tieren 9mal.

Besonders hervorgehoben sei noch, daß es sich in allen Fällen von Metastasenbildung nie etwa um ein Durchwachsen des Impftumors durch das Peritoneum oder die Brustwand handelte: stets war der Impftumor völlig subkutan gelagert und das Peritoneum, resp. die Brustwand gut von ihm abzulösen und ganz unversehrt.

Verschiedene Autoren versuchten, auf experimentellem Wege die Frage der Entstehung von Metastasen zu klären, so z. B. Citron. Mit einer besonderen Technik impfte er Mäusen Carcinommaterial in die Magenwand ein. Von 103 Tieren starben innerhalb der ersten 48 Stunden 31, weitere 21 gingen bis zum Schluß der zweiten Woche zugrunde. Ein positiver Impferfolg unter den überlebenden 51 wurde bei 16 Tieren erzielt. Davon hatten 5 Tiere Metastasen in Leber, Zwerchfell oder Niere, 2 Tiere wiesen Drüsenvergrößerungen auf, bei einem Tier war „der ganze Leib in harte Tumormasse verwandelt“ (Impfung in die freie Bauchhöhle?). Auch Keysser beobachtete Metastasenbildung, wenn er den Tumor nicht subkutan, sondern in innere Organe impfte. Ferner stellten Frankl und Wrzosek Versuche über Metastasenbildung an. Frankl erhält oft Metastasen, wenn er Krebsbrei mit Organemulsionen gemischt injiziert. Er führt das darauf zurück, daß durch die Mischung das Angehen des Tumors verlangsamt wird und so der primäre Tumor Zeit findet, zur Unterlage in intimere Beziehungen zu treten.

Wrzosek kommt im Verlaufe seiner Versuche zu den Schlüssen, daß zur häufigeren Entstehung von makroskopischen Metastasen folgende Bedingungen erfüllt sein müssen:



- 1) die zur Impfung verwendete Geschwulst zeichnet sich durch ausgesprochene Wachstumsenergie aus;
- 2) sie wird an einer der raschen Entwicklung der Geschwulst ungünstigen Stelle eingepflegt;
- 3) es werden Mäuse zur Impfung benutzt, deren Organismus zur Bildung makroskopischer Metastasen geeignet ist.

Um seine zweite Forderung zu erfüllen, impft Wrzosek seine Tiere nicht subkutan an der Flanke, sondern am Schwanz. Während er bei 354 subkutan mit dem einen Tumor geimpften Mäusen makroskopische Metastasen bei 5 Tieren = 1,4 Proz. erhält, traten bei 89 am Schwanz geimpften Tieren in 39 Fällen = 43,8 Proz. Metastasen auf. Mit einem zweiten Tumor, der bei subkutaner Impfung unter 442 Fällen 26mal = 5,9 Proz. Metastasen bildete, erhielt Wrzosek mit der Schwanzimpfung bei 131 Tieren 63mal = 48 Proz. Metastasierung. Es handelte sich stets um Lungenmetastasen. Die Lebensdauer der Tiere wurde nicht durch die Entstehung der Metastasen beeinflusst. Wrzosek beobachtete 1mal schon nach 30 Tagen Metastasen, andererseits sah er nach 289 und 316 Tagen keine Metastasen.

Ich prüfte diese Versuche in zwei Impfreiheiten mit je 20 Tieren nach. Obwohl ich Mäuse benutzte, die anscheinend, wie aus den weiter unten beschriebenen Versuchen hervorgeht, zur Metastasenbildung geeignet waren, fand ich in keinem einzigen Falle makroskopische Metastasen. Ich kann also die Behauptungen Wrzoseks mit unserem Tumor nicht bestätigen. Vielleicht ist bei den Impfungen von Wrzosek Material in die Schwanzvenen gekommen und sind so direkt Geschwulstzellen in den Blutkreislauf gelangt, die dann in den Lungen abgefangen wurden und sich zu makroskopischen Metastasen entwickelten. Dafür würde ja sprechen, daß Wrzosek ausschließlich in den Lungen Metastasen sah. Es wäre aber auch möglich, wie man es so oft bei widersprechenden Beobachtungen in der experimentellen Geschwulstforschung sehen kann, daß die Beobachtung von Wrzosek eine biologische Eigentümlichkeit nur seines Tumors oder jedenfalls nicht aller experimentellen Tumoren ist, so daß Nachprüfung von anderer Seite mit einem anderen Tumor zu entgegengesetztem Resultat führen muß.

In allerneuester Zeit hat Wrzosek seine Experimente wiederholt und die gleichen Resultate erhalten. Freilich denkt Wrzosek jetzt selbst an die Möglichkeit einer direkten Einführung von Geschwulstzellen in die Blutbahn bei subkutaner Impfung in den Schwanz, und er zeigt auch experimentell, daß dies wenigstens bei einem Teil der Mäuse der Fall ist. Im übrigen hat Wrzosek jetzt seine früher ausgesprochenen Ansichten über die Entstehung von makroskopischen Metastasen korrigiert und meint nun, daß die wichtigste Bedingung dafür weder der Ort der Impfung, noch die Schnelligkeit der Entwicklung des Tumors, sondern noch nicht näher erforschte biologische Eigenschaften der Geschwülste sind.

Um die Seltenheit der Metastasenbildung zu erklären, wurden verschiedene Ansichten geäußert. So meint Gierke, daß die Mäuse nach der Impfung zu schnell sterben, als daß sich Metastasen entwickeln können. Dagegen dürfte freilich eine Beobachtung von Lubarsch sprechen, der bei Mäusen, die 9—13 Monate nach der Impfung lebten, keine Metastasen beobachtete, dagegen 4mal Metastasierung bei Mäusen sah, die 3—7 Monate lebten.

Nach der Ansicht Lewins entstehen bei Mäusen die Metastasen im Gegensatz zum Menschen nicht auf dem Lymph-, sondern auf dem Blutwege. Da nun aber, schließt er weiter, das Blut die Fähigkeit hat, Geschwulstzellen abzutöten, werden diese schon während des Transportes vom Primärtumor vernichtet.

Am bekanntesten ist die Theorie der athreptischen Immunität von Ehrlich: zum dauernden Wachstum der Tumorzellen ist die Anwesenheit und die Zufuhr banaler Nährstoffe nicht ausreichend; der Tumor bedarf noch eines bestimmten spezifischen Wachstoffs X. Der gut vaskularisierte primäre Impftumor, der „bei seinem Riesenwuchs gleichsam mit 1000 Mäulern Nahrung schöpft“, entreißt nun aber die für sein Wachstum notwendigen Nährsubstanzen so vollkommen dem Blute, daß für die embolisch verschleppten Zellen keine für ihr weiteres Wachstum genügende Menge übrig bleibt. Je langsamer ein Tumor wächst, um so weniger Nährsubstanzen braucht er zu assimilieren, um so günstiger liegen die Bedingungen für die Entstehung von makroskopischen Metastasen. Hiernach wäre also das Fehlen der Metastasen ein Zeichen eines bösartigen und schnell wachsenden Tumors, während nur relativ gutartige Geschwülste mit langsamem Wachstum Metastasen aufkommen lassen.

Auch die Beobachtungen von Borrel und Haaland, daß in einem hohen Prozentsatz der Fälle Krebszellen vom Orte der Impfung in den Körper verschleppt werden, sich aber nicht zu makroskopischen Metastasen ausbilden, will Ehrlich durch Athrepsie erklären. Gegen diese Ehrlichsche Anschauung, daß der schnell wachsende Primärtumor alle Wachstoffs für sich verbraucht, so daß es nicht zur Metastasenbildung kommen kann, wurden viele Einwände erhoben und sprechen u. a. auch unsere Beobachtungen; wir fanden, daß das Auftreten von Metastasen in gar keinem Zusammenhange mit der Größe des Impftumors steht. Bei Tumoren von Erbsen- bis Pflaumengröße sahen wir in gleicher Weise Metastasen auftreten. Woran liegt es dann, daß sich aus den verschleppten Geschwulstzellen keine makroskopischen Metastasen entwickeln?

Ich machte mir die Vorstellung, daß zwischen den verschleppten Tumorzellen und den Abwehrstoffen des Körpers ein Kampf stattfindet, mag man sich nun unter den „Abwehrstoffen“ frisch gebildete Antikörper oder Normalantikörper oder etwas Drittes, vorläufig noch Unbekanntes vorstellen. (Man denke zum Beispiel auch an die interessanten, vielfach bestätigten Feststellungen von Freund und Caminer, nach denen Normalserum Carcinomzellen auflöst, dem Serum von Carcinomträgern dagegen diese Fähigkeit abgeht.) Gegen den massenhaften Ansturm so vieler Zellen, wie sie bei der Impfung an die Impfstelle gebracht werden, ist der Körper fast stets machtlos. Wohl aber kann er den Kampf mit vereinzelt, ins Innere verschleppten Zellen aufnehmen. In vielen Fällen wird der Körper hier Sieger bleiben. Dann kommt es nicht zur Entwicklung von Metastasen. Unterliegen wird der Organismus, wenn er geschwächt ist, oder andererseits, wenn die verschleppten Zellen besonders resistent, besonders bösartig sind. Es würden also hiernach im Gegensatz zu der Theorie der athreptischen Immunität von Ehrlich gerade die bösartigsten Tumoren Metastasen bilden, während gutartige mit wenig resistenten Zellen nicht metastasieren.

Da wir bei unseren Tumoringpfungen immer mit einem annähernd gleichen Tiermaterial arbeiteten, bei dem man also ungefähr gleich große Resistenz des Organismus annehmen kann, mußte ich den Grund für die

Metastasenbildung in den Tumorzellen selber suchen, d. h. annehmen, daß die Metastasen sich aus verschleppten Zellen entwickelten, die besonders resistent, besonders bösartig sind. Dann mußte es möglich sein, durch elektive Weiterimpfung von Metastasen einen Tumor zu gewinnen, der mehr als andere Tumoren besonders bösartige Zellen enthält, d. h. also in einem hohen Prozentsatz Metastasen bildet. Ganz ähnlich könnte man ja auch das Fortpflanzen eines Spontantumors durch Transplantation als künstliche Metastasen des ersten Tumors auf neue Individuen ansehen. Auch hier gehen bei der 1. Impfgeneration nie alle Impfungen an, und erst durch elektives Ueberimpfen der am schnellsten wachsenden, also virulentesten Tumoren gelingt es, die Virulenz der Geschwulst zu steigern, d. h. ein häufigeres Angehen der „künstlichen Metastasen“ hervorzurufen.

Ich machte dementsprechend mit Metastasen Versuche der elektiven Züchtung.

#### Versuch I.

22. Mai 1913. Die Metastasen aus der Bauchhöhle der Maus 1396, die mit Tumor V geimpft war, im Gewichte von 3,0 g (aus Peritoneum, Mesenterium, Zwerchfell) werden steril entnommen und in 6,0 ccm physiologischer NaCl-Lösung zerkleinert. Von der Emulsion wird Maus 1527 bis 1546 je  $\frac{1}{4}$  ccm subkutan in die rechte Flanke injiziert.

Resultate: Interkurrent innerhalb der ersten 4 Tage starben 5 Mäuse.

2. Juni. 1540 gestorben. Tumor etwa bohngroß, massenhafte Lungenmetastasen. 1527 gestorben. Tumor etwa erbsengroß, Metastasen auf dem Peritoneum und in der Lunge.

3. Juni. 1532 gestorben. Tumor linsengroß, Metastasen in Lungen, Zwerchfell, Milz.

4. Juni. 1530 gestorben. Tumor etwa bohngroß. Metastasen im Mesenterium und beiden Nieren. 1536 gestorben. Tumor etwa linsengroß. Bauchhöhle voll von Metastasen; Zwerchfell ganz infiltriert.

5. Juni. 1531 gestorben. Kirschgroßer Tumor. Lungenmetastasen.

6. Juni. 1546 gestorben. Tumor erbsengroß. Lungenmetastasen; einige Knötchen auf dem Herzen, ein kleiner Knoten in der Leber, mehrere auf dem Peritoneum (vgl. Abbild. 1).

8. Juni. 1543 gestorben. Ueber kirsch- und bohngroßer Tumor. Metastasen in Lungen, Leber, Nieren, Milz (vgl. Abbildung 2).

13. Juni. 1533 getötet. Tumor über kirschgroß. Alle Bauchorgane enthalten Metastasen; Knötchen im Peritoneum.

19. Juni. 1541 gestorben. Tumor kleinpflaumengroß. Metastasen am Herzen, im Zwerchfell, in der Leber, Därme durch Krebsknoten zu einem großen Konglomerat verwachsen.

21. Juni. 1534 gestorben. Tumor über kirschgroß. Lebermetastasen, ein etwa kirschgroßer Tumor in der Bauchhöhle.

24. Juni. 1542 gestorben. Kleinapfelgroßer Tumor, der die Bauchdecken in die Bauchhöhle hinein durchgewachsen hat und die Därme komprimiert, sich aber überall frei lösen läßt. Keine makroskopischen Metastasen.

26. Juni. 1544 gestorben. Kleinapfelgroßer Tumor. Metastasen in Leber und Nieren. 1537 gestorben. Pflaumengroßer Tumor. Niere von Tumorgewebe durchwachsen, das mit der Wirbelsäule verbunden ist. Ein etwa erbsengroßer Knoten in der Leber, mehrere miliare Knötchen im Zwerchfell.

29. Juni. 1538 gestorben. Ueber kirschgroßer Tumor. Keine makroskopischen Metastasen.

Von den überlebenden 15 Tieren des Versuches haben also 13 = 86,6 Proz. sichtbare Metastasen gehabt. Bei einer Kontrollreihe von 20 Tieren, die mit einem Impftumor desselben Stammes, nicht mit Metastasen am 8. Mai geimpft wurden, zeigte nur 1 Tier, = 5 Proz., Metastasen; bei einer weiteren Reihe von 30 Tieren, die ebenso am 20. Mai geimpft wurden, traten 2mal = 6,7 Proz. Metastasen auf; bei einer Impfreihe von 30 Tieren, die am 13. Juni geimpft wurden, traten 4mal = 13,3 Proz. Metastasen auf.

Dieser Versuch wurde noch ein 2. Mal mit Tumor V angestellt, indem Metastasen eines Tieres aus dem I. Versuch zur Impfung verwandt wurden, um eventuell noch eine weitere Steigerung der Metastasierungsfähigkeit des Tumors durch elektive Züchtung zu erhalten.

#### Versuch II.

13. Juni. Bauchmetastasen im Gewichte von 1,9 g werden mit 3,8 ccm physiologischer NaCl-Lösung zerkleinert. Von der Emulsion wird Maus 1647—1656 je  $\frac{1}{4}$  ccm subkutan in die rechte Flanke injiziert.

Resultate: 18. Juni. 1655 gestorben. Kein Tumor.

9. Juli. 1651 gestorben. Kirschgroßer Tumor, Metastasen in der Bauchhöhle.

16. Juli. 1653 gestorben. Kirschgroßer Tumor. Metastasen in der Bauchhöhle.

21. Juli. 1647 gestorben. Pflaumengroßer Tumor. Keine Metastasen.

23. Juli. 1648 gestorben. Pflaumengroßer Tumor. Metastasen in Lungen, Leber,

Mesenterium. 1649 gestorben. Pflaumengroßer Tumor. Bauchhöhle voll von Metastasen. 1654 gestorben. Ueber pflaumengroßer Tumor. Lungenmetastasen.

24. Juli. 1656 gestorben. Kirschgroßer Tumor. Metastasen in Lungen, Zwerchfell, Peritoneum.

25. Juli. 1652 gestorben. Kleinapfelgroßer Tumor. Metastasen in Leber, Milz, Peritoneum.

4. Sept. 1650 gestorben. Kein Tumor.

Auch hier bilden von 8 Tumoren, die angehen, 7 Metastasen = 87,5 Proz. Eine erhebliche weitere Steigerung der Metastasenbildung gegenüber dem I. Versuch ist in diesem II. Versuch jedoch nicht zu konstatieren. Weitere Untersuchungen über diese Frage sind im Gange.

Gleichzeitig mit diesem Versuch wurde neben den verimpften Metastasen der Impftumor desselben Tieres verimpft.

#### Versuch III.

13. Juni. Tumor im Gewichte von 1,6 g wird mit 3,2 ccm physiologischer NaCl-Lösung verrieben. Von der Emulsion wird Maus 1637—1646 je  $\frac{1}{4}$  ccm subkutan in die rechte Flanke injiziert.

Resultate: 18. Juni. 1643 gestorben. Kein Tumor.

16. Juli. 1639 gestorben. Ueber pflaumengroßer Tumor. Metastasen in Lungen, Netz und Peritoneum.

18. Juli. 1640 gestorben. Pflaumengroßer Tumor. Keine Metastasen. 1641 gestorben. Kleinapfelgroßer Tumor. Keine Metastasen.

19. Juli. 1645 gestorben. Pflaumengroßer Tumor. Keine Metastasen.

23. Juli. 1637 gestorben. Kirschgroßer Tumor. Keine Metastasen. 1642 gestorben. Ueberpflaumengroßer Tumor. Keine Metastasen. 1646 gestorben. Ueberpflaumengroßer Tumor. Keine Metastasen.

31. Juli. 1638 gestorben. Kleinapfelgroßer Tumor. Metastasen in Netz, Leber, Milz und linker Niere. 1649 gestorben. Pflaumengroßer Tumor. Metastasen in Zwerchfell, Netz und Leber.

Es ergibt sich also der interessante Befund, daß bei Verimpfung des Primärtumors bei weitem nicht so häufig Metastasen (nur in 33,3 Proz.) auftreten wie bei Verimpfung der Metastasen desselben Tieres (87,5 Proz.). Vielleicht hat dies darin seinen Grund, daß in dem Impftumor eben bösartige und weniger bösartige, resistente und weniger resistente Zellen nebeneinander vorhanden sind, während in den Metastasen die bösartigen, resistenten Zellen überwiegen.

Vielleicht bietet der Ausfall dieses Versuches auch eine Erklärung dafür, daß bei gewöhnlicher Weiterimpfung die Metastasenbildung so inkonstant ist, in mancher Impfgeneration plötzlich auftritt und ebenso wieder verschwindet.

Am 26. Juni 1913 starb 1 Tier mit einem Tumor IIIa, das 3 etwa pfefferkorngroße und eine etwa bohnen große Metastase im Mesenterium aufwies. Es war dies der 3. Fall von Metastasenbildung, den wir bisher unter ca. 900 Impfungen mit Tumor IIIa beobachtet hatten.

Ich stellte nun auch mit diesen Metastasen den Versuch der elektiven Weiterimpfung an.

#### Versuch IV.

26. Juni. Metastasen im Gewicht von 0,3 g werden mit 3,0 ccm physiologischer NaCl-Lösung zerkleinert. Von dieser Emulsion wird den Mäusen 1727—1736 je  $\frac{1}{4}$  ccm subkutan in die rechte Flanke injiziert.

Resultate: In den ersten 3 Tagen starben interkurrent 2 Mäuse.

7. Juli. 1729 gestorben. Kleinerbsengroßer Tumor. Lungenmetastasen.

16. Juli. 1727 gestorben. Reichlich bohngroßer Tumor. Metastasen in Brusthöhle, Peritoneum und Nieren.

19. Juli. 1730 gestorben. Kirschgroßer Tumor. Metastasen in Lunge, Zwerchfell, Bauchhöhle.

20. Juli. 1735 gestorben. Bohngroßer Tumor. Metastasen im Mesenterium, Nieren, Peritoneum, Zwerchfell. 1728 gestorben. Kirschgroßer Tumor. Metastasen in Lungen, Zwerchfell, Nieren, Mesenterium, Peritoneum.

31. Juli. 1731 gestorben. Ueber kirschgroßer Tumor. Metastasen in Lungen, Leber, Milz, linker Niere, Netz. 1732 gestorben. Pflaumengroßer Tumor, der die Bauchwand durchwachsen hat und die rechte Bauchseite ganz ausfüllt. Metastasen im Zwerchfell, linker Niere und vorderer Bauchwand.

21. Aug. 1736 gestorben. Kleinapfelgroßer Tumor. Keine Metastasen.

Auch bei diesem Tumor IIIa, der sonst gar nicht zur Metastasenbildung neigte, sind also unter 8 Tieren 7mal = 87,5 Proz. Metastasen aufgetreten.

Es gelingt also tatsächlich, durch Verimpfung von Metastasen einen Tumor zu gewinnen, der fast stets Metastasen hervorruft.

Ueber die histologische Beschaffenheit der Tumoren und ihrer Metastasen seien nur einige wenige Worte gesagt. Wie aus den beiliegenden Bildern des Tumor V hervorgeht (Abb. 3), handelt es sich um ein kleinzelliges Carcinom, bestehend aus unregelmäßigen, mehrschichtigen Epithelhaufen mit nur geringer Entwicklung von Bindegewebe, durch das der Tumor in Alveolen von verschiedener Größe getrennt wird. Die Metastasen weisen genau den gleichen Zellaufbau wie der Primärtumor auf. Aus den beigegebenen Bildern — Metastasen in Leber, Niere und Muskulatur des Zwerchfells — ist zu ersehen, daß das Wachstum der Metastasen infiltrierend ist. Die Krebszellen schieben sich zwischen das normale Gewebe ein, das durch den wachsenden Tumor komprimiert wird — ganz das histologische Bild, wie es von Krebsmetastasen in der menschlichen Pathologie bekannt ist.

Die vorstehenden Befunde bilden eine weitere Analogie zwischen Mäusekrebs und menschlichen Tumoren.

Die Theorie der athreptischen Immunität von Ehrlich, nach der gerade die bösartigen Tumoren keine Metastasen bilden sollen, ist für die menschliche Pathologie unhaltbar, wie auch schon Lewin hervorhebt. Auch beim menschlichen Carcinom werden nach den Untersuchungen von M. B. Schmidt weit mehr Zellen vom Primärtumor verschleppt, als sich Metastasen entwickeln. Bei der Annahme eines Kampfes zwischen diesen verschleppten Zellen und dem Organismus, wie ich es oben dargelegt habe, würden, im Gegensatz zu Ehrlichs Anschauung, gerade die bösartigsten Tumoren Metastasen bilden, während gutartige mit wenig resistenten Zellen nicht metastasieren. Ähnlich kommt es bei bakteriellen Infektionen nur dann zur Entwicklung von metastatischen Herden, wenn besonders virulente Infektionserreger vorliegen oder der Kranke nicht widerstandsfähig genug ist, um Antikörper bilden zu können. Man könnte sich ebenso vorstellen, daß der Organismus des Menschen durch

den wachsenden Primärtumor „geschwächt“ wird, mag nun diese Schwächung in irgendwelchen Immunitätsvorgängen ihren Grund haben oder mag der Körper sekundär durch mangelnde Nahrungsaufnahme, Resorption von Geschwulstgiften etc. ganz allgemein in seiner Resistenz lahmgelegt werden. Jedenfalls unterliegt nach einiger Zeit des Wachstums des Primärtumors der Organismus in seinem Kampfe gegen verschleppte Geschwulstzellen, und die ersten Metastasen kommen zur Entwicklung. Diese schwächen den Körper wieder weiter in seinem Kampfe, und neue Metastasen entstehen. So kommt es zu einem *Circulus vitiosus*, der nach Bildung der ersten Metastasen unaufhaltsam und immer rascher den Krebskranken seinem Ende entgegenführt.

#### Literatur.

- Apolant u. Ehrlich, Ueber die Genese des Carcinoms. (Verhandl. d. Dtschn. Path. Gesellsch. Kiel 1908.)
- Apolant, Ehrlich u. Haaland, Experimentelle Beiträge zur Geschwulstlehre. (Berlin. klin. Wochenschr. 1906.)
- Bashford, E. F., Illustrations of propagated cancer. (Brit. med. Journ. 1906. p. 1211.)
- Borrel et Haaland, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1905.
- Citron, H., Ein Beitrag zur Biologie des Mäusecarcinoms. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 15. 1912. p. 1.)
- Ehrlich, Experimentelle Carcinomstudien an Mäusen. (Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exper. Ther. Frankfurt a. M. 1906.)
- , Experimentelle Studien an Mäusetumoren. (Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 5. 1907.)
- , Experimentelle Carcinomstudien an Mäusen. (Grenzgeb. d. Med. 14. Vortrag etc.) Jena (G. Fischer) 1908.
- Ehrlich u. Apolant, Ueber die Genese des Carcinoms. (Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Erg.-Bd. zu Bd. 19.)
- Flexner S. u. Jobling, J. W., Infiltrating and metastasizing sarcoma of the rat. (Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 48. 1907. No. 5. Ref. Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 6. 1908. p. 502.)
- , Infiltrierendes und metastasenbildendes Sarkom der Ratte. (Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. 28. 1907. H. 7.)
- Frankl, Analogien zwischen Mäuse- und Menschencarcinom. (Votr., gehalten auf der 85. Naturf.-Vers. in Wien. 1913.)
- Henke, Ueber die Bedeutung der Mäusecarcinome. (Münch. med. Wochenschr. Bd. 59. 1912. p. 237.)
- Jensen, Experimentelle Untersuchungen über Krebs bei Mäusen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 28.)
- , Ueber einige Probleme der experimentellen Krebsforschung. (Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 7. 1909. p. 279.)
- Keysser, Beiträge zur experimentellen Carcinomforschung. (Wien. klin. Wochenschr. 1913. p. 1664.)
- Levin, Isaac, Tumor inoculation into organs and the analogy between human cancer and the tumors of white mice and white rats. (Journ. of exper. Med. Vol. 16. 1912. p. 155. Ref. Centralbl. f. Bakt. Refer. Bd. 55. 1912. p. 41.)
- Lewin, Carl, Experimentelle Beiträge zur Morphologie und Biologie bösartiger Geschwülste. (Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 6. 1908. p. 267.)
- , Die bösartigen Geschwülste. Leipzig 1909.
- Michaelis, Experimentelle Untersuchungen über den Krebs der Mäuse. (Med. Klinik. 1905. p. 204.)
- Stumpf, Kurze Mitteilung über das Wachstum des Mäusecarcinoms in der Niere. (Zieglers Beitr. Bd. 47. 1910. p. 571.)
- Wrzosek, Adam, Ueber die Bedingungen der Entstehung von makroskopischen Metastasen bei carcinomatösen Mäusen. (Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 11. 1912. p. 507.)
- , Makroskopische Metastasen bei carcinomatösen Mäusen. (Przegl. lekarski. 1913. No. 25. Ref. Dtsche med. Wochenschr. 1913. p. 1900.)

**Tafelerklärung.**

Fig. 1. Maus 1546. Lungenmetastasen, einige Knötchen auf dem Herzen, ein kleiner Knoten in der Leber, mehrere auf dem Peritoneum.

Fig. 2. Maus 1543. Metastasen in Lungen, Leber, Nieren und Milz.

Fig. 3. Mäusecarcinom. Alveolärer Bau, bindegewebige Septen, im unteren Teil des Bildes nekrotische Partien.

Fig. 4. Lebermetastase. Links Tumor, rechts normales Lebergewebe, dazwischen komprimiertes und teilweise nekrotisches Gewebe.

Fig. 5. Dasselbe Präparat wie in Fig. 4 bei stärkerer Vergrößerung.

Fig. 6. Nierenmetastase. Im oberen Teil Tumor, im unteren Teil normales Nierengewebe, die dazwischen liegenden Teile werden durch die hineinwuchernden Krebszellen komprimiert.

Fig. 7. Metastase in der Muskulatur des Zwerchfells. Die Krebszellen schieben sich zwischen die Muskelfasern ein.

*Nachdruck verboten.*

## Syphilis und Wassermannsche Reaktion bei den Findel-säuglingen<sup>1)</sup>.

[Aus der Chemisch-bakteriologischen Abteilung des Gouvernements-Semstwo-Krankenhauses in Charkow.]

Von Dr. **Marcus Rabinowitsch.**

Mit der Säuglingssyphilis ist eine ganze Reihe von sehr wichtigen Fragen verbunden, die seit Jahrhunderten in gleicher Weise die Kinderärzte wie die Syphilidologen und Gynäkologen beschäftigen.

Am meisten wurde die sehr wichtige Vererbungsfrage und die mit dieser im Zusammenhang stehenden Collesschen und Profetaschen Gesetze diskutiert, und zwar besonders intensiv im Laufe des letzten Dezenniums, nämlich seit dem bekannten Vortrage von Matzenauer in der Wiener Aerztesgesellschaft, der eine große und sehr leidenschaftliche Diskussion hervorgerufen hat.

Matzenauer hat die bis dahin herrschende Lehre, daß die Syphilis sowohl von der Mutter, als auch vom Vater auf das Kind vererbt werden kann, sehr energisch zurückgewiesen, und die Behauptung aufgestellt, daß nur eine materne Infektion, und zwar ausschließlich auf placentarem Wege, möglich ist.

Es gibt keine Ausnahme vom Collesschen Gesetz — sagt Matzenauer — jede Mutter eines hereditärluetischen Kindes ist ausnahmslos immun, aber nicht wirklich gesund, sondern latent syphilitisch.

Was das Profetasche Gesetz anbelangt, nach dem die Kinder syphilitischer Mütter gegen Syphilis immun sein sollten, auch wenn sie keine Zeichen von Syphilis haben, so stellte Matzenauer seine Richtigkeit in Abrede, da seiner Meinung nach eine Reihe zweifelloser Ausnahmefälle beobachtet worden ist.

In der Diskussion, die dem Vortrage folgte, wurde der Matzenauerschen Hypothese von den meisten Rednern widersprochen; die Frage konnte aber nicht entschieden werden, da streng wissenschaftliche Beweise weder für, noch gegen die Matzenauersche Hypothese er-

1) Die vorläufige Mitteilung ist am 27. Dez. 1912 auf dem ersten Kongreß der russischen Kinderärzte in Petersburg gemacht worden.



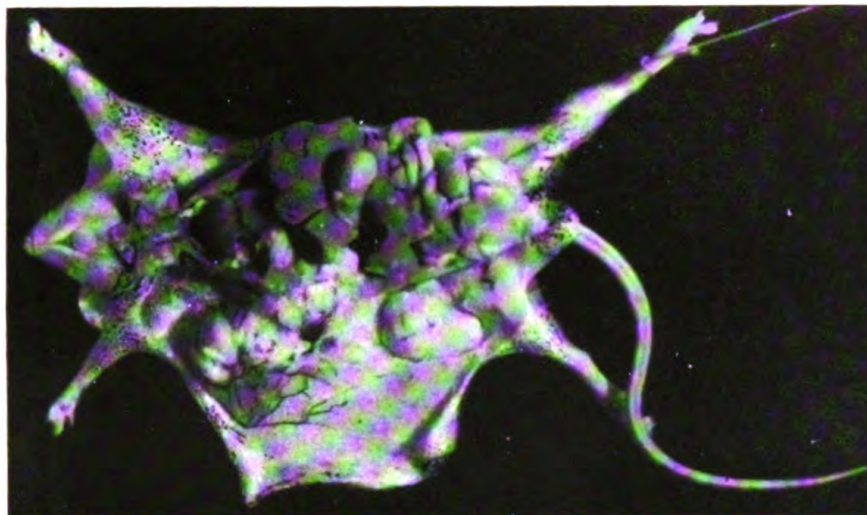


Fig. 2.

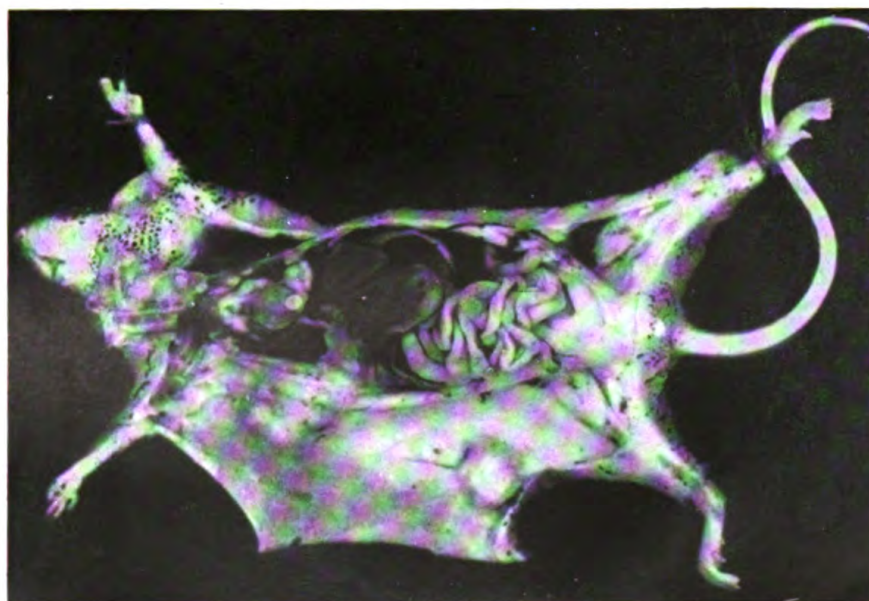


Fig. 1.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.





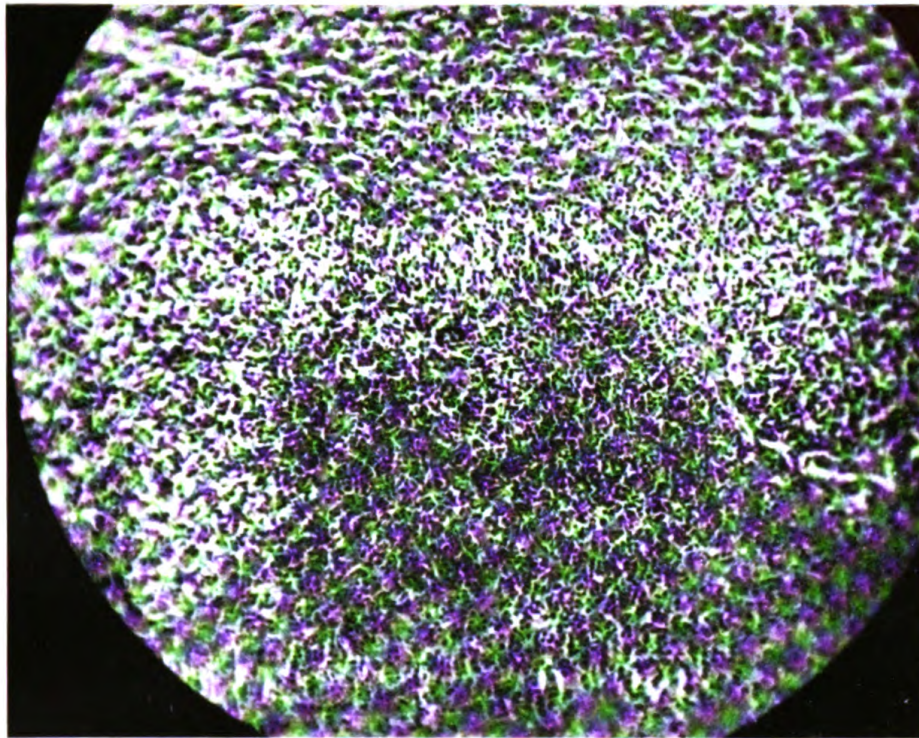


Fig. 4.

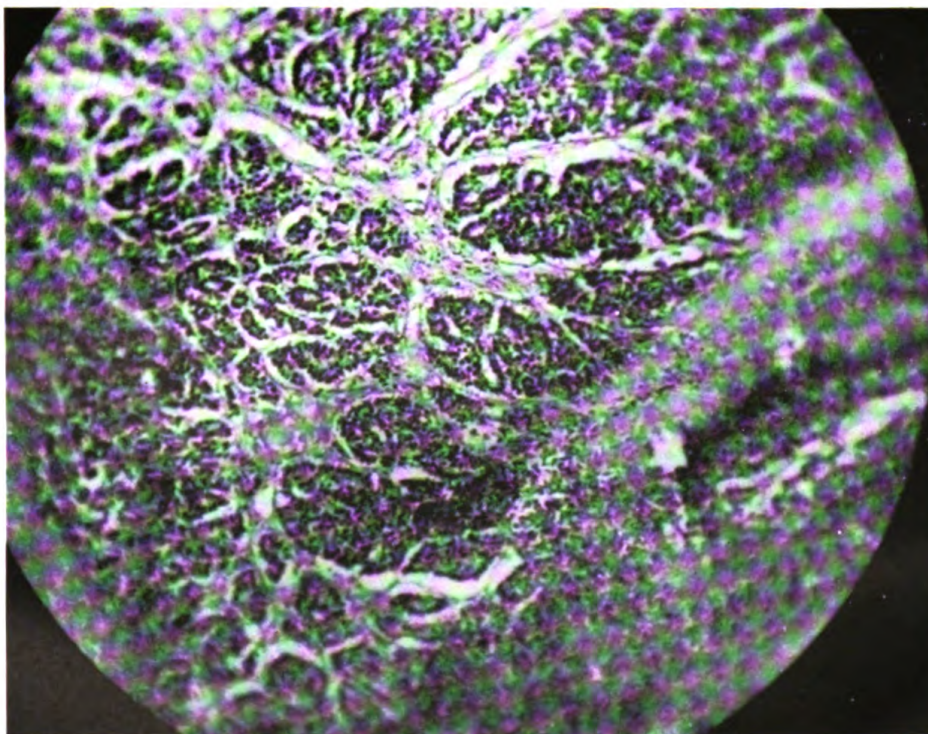


Fig. 3.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.





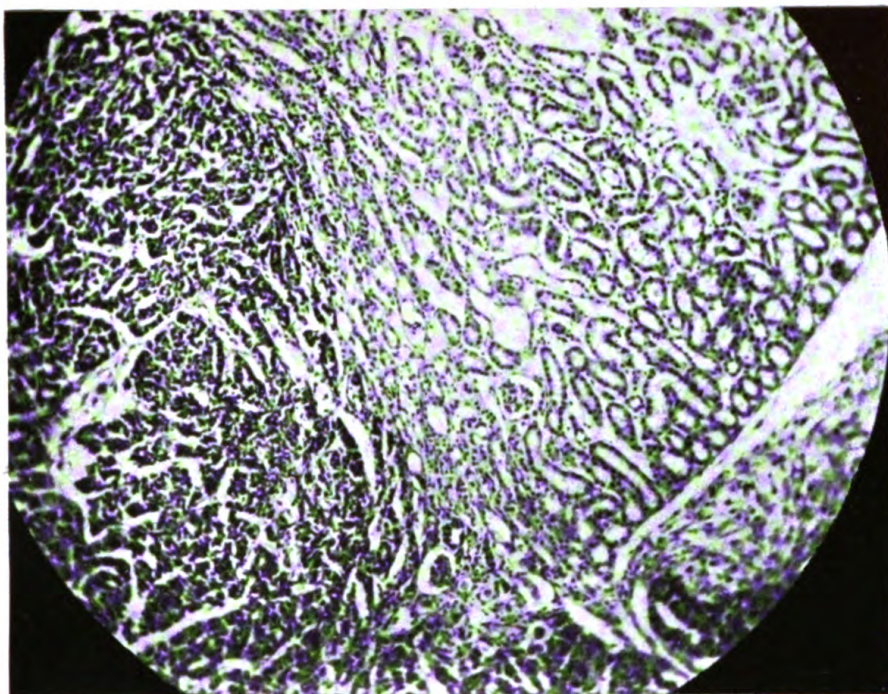


Fig. 6.

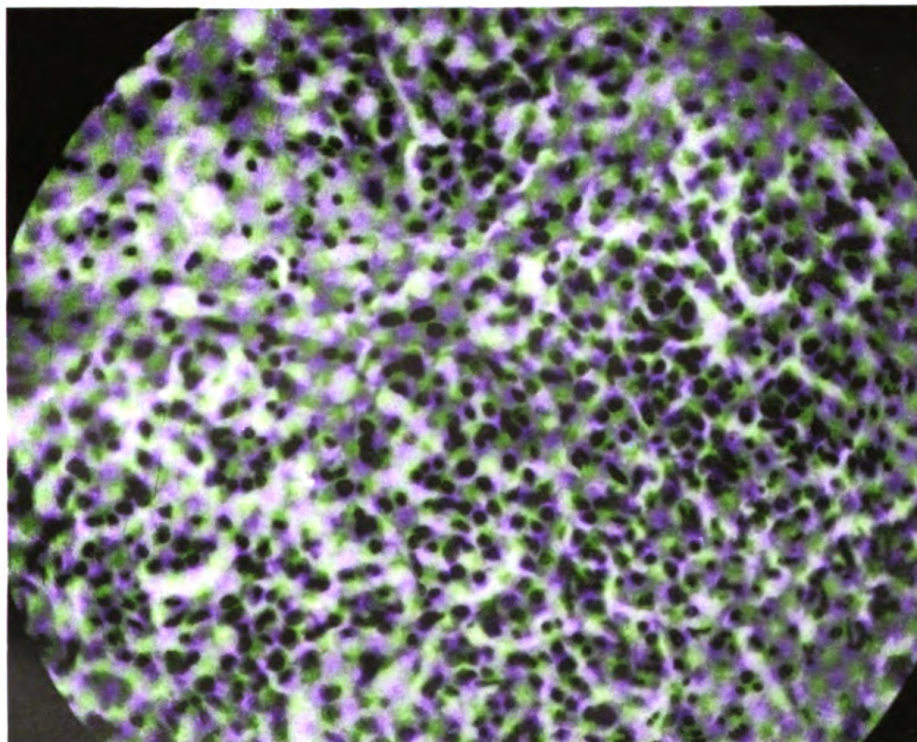
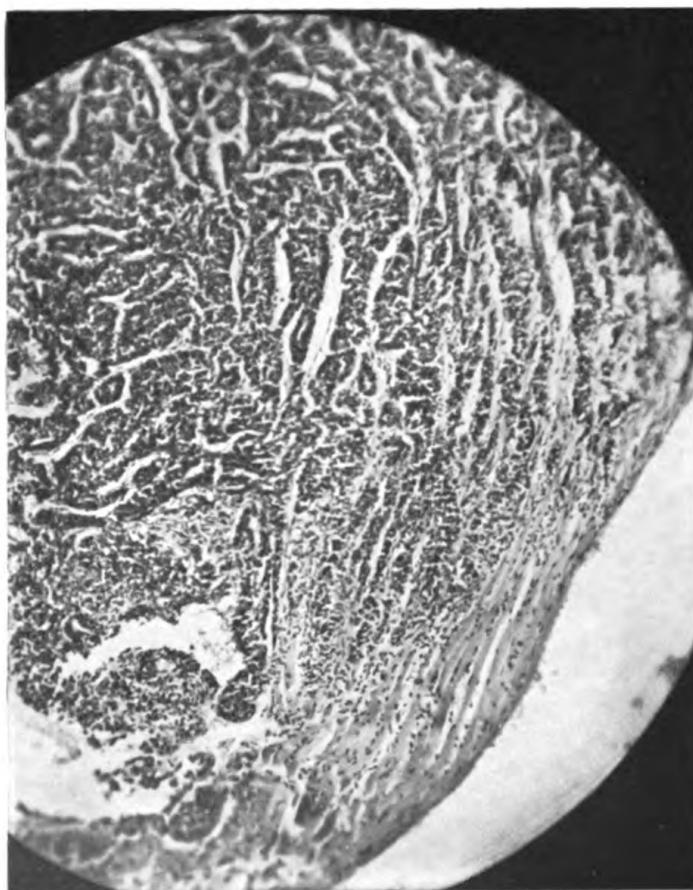


Fig. 5.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.





**Fig. 7.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**



bracht werden konnten, und die ganze Diskussion einen rein spekulativen Charakter hatte.

Diese Besonderheit der Diskussion hat einer der Redner schon damals betont. Ob man die klinischen Beobachtungen eines Autors höher und verlässlicher zu bewerten hat als die eines anderen — sagte Riehl — das ist nicht mehr Sache der exakten Forschung, sondern des Vertrauens, des Autoritätsglaubens, und damit ist die Diskussion zu Ende. . . . In der Hereditätsfrage wird und kann heute keine Entscheidung fallen — sie wird erst nach Entdeckung des Syphiliserregers unserem Verständnis nähergerückt werden.

In der Tat ist es erst seit der Entdeckung des Syphiliserregers und der biologischen Syphilisreaktion, wie auch der Empfänglichkeit der Affen und Kaninchen für die Syphilisinfection möglich geworden, der Vererbungsfrage auf experimentellem Wege näherzutreten.

Von welcher Bedeutung die Entscheidung dieser Frage ist, braucht wohl nicht näher auseinandergesetzt zu werden; ich möchte aber hier besonders die Ernährungsfrage für die syphilitischen Säuglinge hervorheben, die mit der Hereditätsfrage in engem Zusammenhang steht.

Wenn nämlich die gesunden Mütter syphilitischer Kinder und gesunde Kinder syphilitischer Mütter nicht syphilitisch und doch, wie die Collesschen und Profetaschen Gesetze lauten, gegen Syphilis immun sind, dann kann ein derartiges Kind von der eigenen Mutter und von jeder Amme gestillt werden. Sind dagegen diese scheinbar gesunden Mütter und Kinder deshalb immun, weil latent syphilitisch, dann dürfen diese Kinder zwar an die Brust der Mütter, aber unter keinen Umständen an diejenige einer gesunden Amme angelegt werden.

Zur Lösung dieser Frage haben nach verschiedenen Richtungen hin eingeleitete experimentelle Untersuchungen beigetragen. Einerseits wurden die Organe der syphilitischen Föten und Neugeborenen, deren Nabelschnüre, wie auch die entsprechenden Placenten auf die Anwesenheit der *Spirochaeta pallida*, andererseits die Sera der Mütter und ihrer Kinder auf die Wassermannsche Reaktion untersucht.

Was den Spirochätenbefund bei der kongenitalen Syphilis anbelangt, so sind dieselben zuerst von Buschke und Fischer im Blut, in der Leber und Milz, und nachher von zahlreichen Autoren beinahe in sämtlichen inneren Organen und Körperflüssigkeiten nachgewiesen worden.

Auch in der Nabelschnur und in der Placenta sind Spirochäten von den meisten Autoren, wenn auch spärlich, nachgewiesen worden. Von besonderer Bedeutung ist es, daß die Spirochäten in normalen Placenten von anscheinend gesunden Müttern syphilitischer Föten nachgewiesen worden sind.

Durch diesen Spirochätenbefund in anatomisch unveränderten Placenten und in deren intravillösen Räumen ist der Nachweis erbracht worden, daß der Syphiliserreger die Placenta passieren und von der Mutter auf das Kind und umgekehrt sich verbreiten kann.

Aus dieser Tatsache muß gefolgert werden, daß sämtliche Mütterluetischer Kinder, wie auch sämtliche Kinder luetischer Mütter syphilitisch sein müssen, und für diese Kinder ist die Ernährungsfrage in dem Sinne zu entscheiden, daß sie von ihren Müttern gestillt werden müssen.

Anders liegen die Verhältnisse bei anscheinend gesunden Findelsäuglingen, von deren Müttern wir nichts wissen und die doch an die Ammenbrust angelegt werden müssen.



Bei diesen Kindern könnte die Ernährungsfrage nur dann richtig entschieden werden, wenn es möglich wäre, bei denselben durch irgendein diagnostisches Hilfsmittel die Syphilis auch dann zu konstatieren, wenn keine körperlichen Zeichen derselben vorhanden sind.

Von besonderer Wichtigkeit ist es, möglichst frühzeitig die Syphilisdiagnose zu stellen, denn durch die latent luetischen Findelsäuglinge kann die Syphilis unter der Bevölkerung verbreitet werden, wie es bei uns in der Tat der Fall ist.

Wie stark die Syphilis in Rußland verbreitet ist, kann man aus der folgenden, nach den amtlichen Berichten zusammengestellten Tabelle 1 schließen, in der die Zahl der Syphiliskranken, die nur von den Krankenhäusern stationär und ambulatorisch im Laufe der letzten Jahre behandelt wurden, verzeichnet ist:

Tabelle 1.

Jahr	Zahl der Fälle	Davon in Städten	Davon auf dem Lande
1900	936 985	?	?
1901	961 628	?	?
1902	1 007 429	?	?
1903	1 054 387	29,1 Proz.	70,9 Proz.
1904	999 869	31,8 "	68,2 "
1905	998 965	31,0 "	69,0 "
1906	1 098 366	32,0 "	68,0 "
1907	1 100 944	33,0 "	67,0 "
1908	1 181 647	34,0 "	66,0 "
1909	1 199 148	33,0 "	67,0 "
1910	1 214 915	33,0 "	67,0 "

Daß an dieser starken Ausbreitung der Syphilis, und zwar hauptsächlich unter der ländlichen Bevölkerung, in hohem Grade die Findelkinder beteiligt sind, folgt aus der Einrichtungs- und Verwaltungsart der Findelhäuser.

In den meisten von den Semstwo eingerichteten und verwalteten Findelhäusern werden Kinder geheim aufgenommen, d. h. jedermann kann nach dem Findelhaus ein Kind bringen und dasselbe in der Wiege, die im Flur des Hauses angebracht ist, lassen, ohne sich zu melden oder etwas Näheres über das Kind mitzuteilen.

Die aufgenommenen Säuglinge werden einige Tage oder Wochen im Findelhaus von Ammen gestillt und dann zur Erziehung anderen Ammen aufs Land abgegeben.

Ein syphilitischer Säugling kann also erstens die Amme im Findelhaus und dann diejenige auf dem Lande infizieren. Die infizierten Ammen des Findelhauses können die gesunden Säuglinge, die sie dort nacheinander zum Stillen bekommen, infizieren, ebenso kann die infizierte Amme auf dem Lande ihre eigenen Kinder sowie auch die ganze Familie mit Syphilis anstecken.

Andererseits können die syphilitischen Ammen des Findelhauses gesunde Säuglinge infizieren, die, aufs Land in eine gesunde Familie zur Erziehung abgegeben, diese mit Syphilis anstecken können.

Daß diese Art der Ausbreitung der Syphilis in der Tat erfolgt, wird klar, wenn man das Elend, die Unwissenheit und Unsauberkeit der ländlichen Bevölkerung, die monatelang die Wäsche trägt und jahrelang nicht badet, in Betracht zieht.

Wie groß das Elend und der Schmutz ist, in dem diese Bevölkerungsschicht lebt, das beweist die Zahl der Erkrankungen an Skabies, die nach amtlichen Berichten der letzten Jahre in der Tabelle 2 zusammengestellt ist.

Es muß dabei berücksichtigt werden, daß diese Zahl der Kranken nur von Krankenhäusern stationär und ambulatorisch behandelt wurde.

Tabelle 2.

Jahr	Zahl der Fälle	in Städten	auf dem Lande
1900	3 164 939	?	?
1901	3 333 333	?	?
1902	3 356 317	?	?
1903	3 630 761	9,8 Proz.	90,2 Proz.
1904	3 578 450	10,1 "	89,9 "
1905	3 606 851	13,0 "	87,0 "
1906	3 623 706	11,0 "	89,0 "
1907	3 704 720	11,0 "	89,0 "
1908	4 123 477	11,0 "	89,0 "
1909	4 296 266	11,0 "	89,0 "
1910	4 285 326	10,0 "	90,0 "

Wenn man dabei in Betracht zieht, daß die Wassermannsche Reaktion in 28 Proz. der von mir untersuchten Ammen ein positives Resultat ergeben hat, so wird es wohl nach der vorhergegangenen Auseinandersetzung klar werden, daß den Findelkindern eine wichtige Rolle in der Ausbreitung der Syphilis zukommen muß.

Die Erfahrung hat auch in der Tat Beweise dafür geliefert. Im Laufe der letzten 35 Jahre, vom Jahre 1867—1912, sind im Charkower Findelhaus 18 930 Kinder aufgenommen worden, von denen 12 717 oder 67,1 Proz. gestorben sind.

Diese Kinder sind, wie aus der Tabelle 3 zu entnehmen ist, immer nur einige Tage im Findelhaus geblieben und wurden dann aufs Land zur Erziehung abgegeben; erst mit dem Uebergange des Findelhauses zum Semstwo ist der Aufenthalt der Säuglinge im Findelhaus bedeutend verlängert worden.

Auf dem Lande sind die Findelkinder in 55 Dörfern des Charkower Gouvernements untergebracht; in vielen von diesen Dörfern ist jetzt der größte Teil der Bevölkerung syphilitisch.

Diese syphilitischen Dörfer sind aber an der Versorgung des Findelhauses mit Ammen und Kindern, die die Syphilis immer weiter verbreiten, mitbeteiligt.

Als Beweis dafür können die zahlreichen Fälle dienen, in denen gesunde Ammen durch latent syphilitische Säuglinge des Findelhauses an der Brustwarze mit Syphilis infiziert worden sind.

Diese traurigen, wiederholt konstatierten Tatsachen haben die Veranlassung gegeben, daß die Wassermannsche Reaktion ausnahmslos bei sämtlichen ins Findelhaus aufgenommenen Kindern und Ammen ausgeführt wird (s. Tabelle 3).

Welchen diagnostischen Wert die Syphilisreaktion bei Erwachsenen hat, ist allgemein bekannt und bedarf keiner weiteren Auseinandersetzung. Anders dagegen liegen die Verhältnisse beim Kinde und besonders beim Säugling, bei dem schon von zahlreichen Autoren die Reaktion ausgeführt wurde, aber nicht zahlreich und systematisch genug, weshalb, wie die weiter unten folgende Auseinandersetzung

zeigen wird, die Ergebnisse der Untersuchungen oft einander widersprechend sind.

Tabelle 3.

Jahr	Zahl der aufgenommenen Kinder	Mittlere Zahlen der im Findelhaus verbrachten Tage
1899	464	8,0
1900	497	6,7
1901	526	6,7
1902	549	9,3
1903	504	10,7
1904	521	9,1
1905	727	8,7
1906	773	8,0
1907	800	5,0
1908	877	6,0
1909	900	4,5
1910	803	22,5
1911	825	44,8
1912	952	52,7

Schon bei meinen ersten Versuchen ist mir die Eigentümlichkeit des Serums der Säuglinge aufgefallen.

Die Versuche wurden, wie ich es sonst bei der Syphilisreaktion der Erwachsenen tue, mit 5 spezifischen Antigenen, d. h. solchen, die nur mit dem Serum der Luetiker Komplementbindung geben, mit einem normalen, das auch mit Luetiker Serum keine Komplementbindung gibt, und endlich einem Antigen, das mit normalem Serum wie auch selbst ohne Serumzusatz, das Komplement bindet, angestellt.

Dabei hat sich herausgestellt, daß das zuletzt erwähnte Antigen, welches auch mit normalem Serum und ohne Serumzusatz das Komplement bindet, beim Zusatz von Säuglingsserum in der Mehrzahl der Fälle diese Fähigkeit verloren hat, und es trat beim Versuche mit denselben in gleicher Weise wie mit den übrigen spezifischen Antigenen eine komplette Hämolyse ein.

Diese Tatsache hat Zweifel an der Brauchbarkeit der Wassermannschen Reaktion zur Diagnose der Säuglingssyphilis erweckt.

Dieser Zweifel wurde noch dadurch verstärkt, daß sehr bald eine gesunde Amme, bei der bei der Aufnahme die Wassermannsche Reaktion ein negatives Resultat ergeben hatte, durch einen Säugling mit Syphilis infiziert wurde, bei dem die Wassermannsche Reaktion bei der Aufnahme ebenfalls negativ ausgefallen war.

Wie groß war aber die Ueberraschung, als bei der zweiten Blutuntersuchung die Wassermannsche Reaktion bei der Amme wie auch beim Säugling stark positiv wurde.

Alle diese Beobachtungen haben mich veranlaßt, das Serum der Säuglinge in verschiedener Richtung näher zu untersuchen.

Die erwähnte Beobachtung, daß beim Zusatz des Säuglingsserums auch diejenigen Antigene, die an sich das Komplement zu binden die Fähigkeit besitzen, diese Eigenschaft verlieren, legte den Gedanken nahe, daß im Säuglingsserum viel Komplement und Ambozeptor für die Hammelblutkörperchen vorhanden sein muß.

Bekanntlich sind in den meisten Blutseris der Erwachsenen Komplement und Ambozeptor für die Hammelblutkörperchen vorhanden, und

aus diesem Grunde, um das Komplement zu zerstören, werden die Sera vor der Wassermannschen Reaktion inaktiviert.

In dieser Richtung angestellte Versuche haben aber, wie die folgende Tabelle 4 zeigt, in der einige der zahlreichen Versuche zusammengestellt sind, die erwähnte Vermutung widerlegt und den Beweis dafür geliefert, daß in den ersten Wochen nach der Geburt im Säuglingsserum weder Komplement noch Ambozeptor vorhanden sind.

Diese Versuche sind in der Weise angestellt worden, daß zu 5 ccm der frischen 2-proz. Serumverdünnung je 0,1 und 0,2 ccm einer 20-proz. Aufschwemmung von 3mal gewaschenen Hammelblutkörperchen zugesetzt, tüchtig geschüttelt, 2 Stunden im Thermostaten bei 37° C und nachher bis zum nächsten Morgen im Eisschrank gelassen wurde.

Zu bemerken ist dabei, daß in den Versuchen mit positivem Resultate die Hämolyse schon nach  $\frac{1}{2}$  Stunde im Thermostaten zutage tritt, weshalb die Ergebnisse der Versuche auch zu dieser Zeit notiert werden müssen<sup>1)</sup>.

Um festzustellen, ob beide Komponenten des hämolytischen Systems fehlen, oder nur eins, sind weitere Versuche in der Weise angestellt worden, daß in den einen das Serum inaktiviert wurde und demselben außer der Hammelblutaufschwemmung genau austitriertes Komplement, in anderen zum frischen Serum Ambozeptor zugesetzt wurden.

Bei diesen Versuchen hat sich herausgestellt, daß, wenn die Serumverdünnung an sich die Hammelblutkörperchen nicht löst, sie es zu tun auch nicht imstande ist, wenn Komplement bzw. Ambozeptor hinzugefügt wird. Das ist auch bei den Seris der Erwachsenen der Fall.

Wie aus der Tabelle IV zu entnehmen ist, hatten die von mir untersuchten Sera der Säuglinge im Alter bis zu 2 Monaten absolut kein hämolytisches Vermögen, ganz unabhängig davon, ob sie bei der Syphilisreaktion ein positives oder negatives Resultat gegeben haben.

Im späteren Alter sind die Säuglingssera in bezug auf die Fähigkeit, die Hammelblutkörperchen zu lösen, quantitativ verschieden, je nach dem Falle, und wiederum unabhängig vom Ergebnis der Wassermannschen Reaktion.

Die festgestellte Eigentümlichkeit der Säuglingssera die schon früher wie ich mich bei der nachträglichen Literaturnachforschung überzeugen konnte, Bauer beobachtet hat, veranlaßte mich, sämtliche Wassermannschen Reaktionen gleichzeitig mit „inaktivierten“ wie auch mit „aktiven“ Seris auszuführen.

Die Ergebnisse dieser Versuche waren ganz überraschend; in einigen Fällen hat der Versuch mit dem „inaktiven“ Serum ein negatives, mit dem „aktiven“ Serum aber ein positives Resultat ergeben.

In einigen dieser Fälle wurden bei der klinischen Untersuchung Zeichen der hereditären Syphilis festgestellt, in anderen konnte dagegen nichts gefunden werden, was den Verdacht auf Lues erwecken konnte.

Diese sämtlichen Fälle sind als zweifelhafte bezeichnet worden, damit die Syphilisreaktion mehrere Male wiederholt wird, und in der Mehrzahl der Fälle hat endlich auch der Versuch mit dem „inaktiven“ Serum ein positives Resultat ergeben.

1) Es gibt Sera, die schon nach 10–15 Minuten die Hammelblutkörperchen komplett auflösen.

Tabelle 4.

Alter	0,1 Blutkörperchenaufschwemmung		0,2 Blutkörperchenaufschwemmung		Wassermannsche Reaktion
	nach 1/2 Stunde	nach ca. 18 Stunden	nach 1/2 Stunde	nach ca. 18 Stunden	
6 Tage	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	negativ
8 "	" "	" "	" "	" "	positiv
2 Wochen	" "	" "	" "	" "	negativ
3 "	" "	" "	" "	" "	positiv
4 "	" "	" "	" "	" "	negativ
4 "	" "	" "	" "	" "	positiv
6 "	" "	" "	" "	" "	negativ
6 "	" "	" "	" "	" "	positiv
2 Monate	" "	" "	" "	" "	negativ
2 "	" "	" "	" "	" "	positiv
2 "	" "	Spur	" "	Spur	negativ
3 "	" "	keine	" "	keine	"
3 "	" "	" "	" "	" "	positiv
3 "	komplette "	komplette "	teilweise "	teilweise "	"
4 "	Spur "	teilweise "	Spur "	" "	negativ
4 "	" "	Spur "	" "	Spur "	positiv
4 "	komplette "	komplette "	teilweise "	teilweise "	"
4 "	" "	" "	komplette "	komplette "	negativ
5 "	Spur "	teilweise "	Spur "	teilweise "	"
5 "	komplette "	komplette "	komplette "	komplette "	"
5 "	Spur "	komplette "	Spur "	Spur "	positiv
5 "	komplette "	komplette "	teilweise "	komplette "	"
6 "	Spur "	" "	Spur "	teilweise "	negativ
6 "	komplette "	" "	komplette "	komplette "	positiv
6 "	" "	" "	" "	" "	negativ
9 "	teilweise "	" "	teilweise "	teilweise "	positiv
9 "	komplette "	" "	komplette "	komplette "	"
9 "	" "	" "	" "	" "	negativ
12 "	" "	" "	" "	" "	"
12 "	Spur "	" "	Spur "	teilweise "	"
12 "	" "	" "	komplette "	komplette "	positiv
12 "	teilweise "	" "	teilweise "	" "	"

Als ich dieselbe Versuchsanordnung d. h. die Benutzung des frischen Serums parallel mit dem inaktivierten, auch bei den Untersuchungen der Sera der Erwachsenen ausführte, konnte ich häufig genug dieselben Erscheinungen auch hier beobachten, und zwar besonders häufig bei Geisteskranken und bei denjenigen Syphiliskranken, bei denen unter der Wirkung der spezifischen Therapie die Wassermannsche Reaktion, die vorher stark positiv war, mit dem „inaktiven“ Serum ein negatives, mit dem „aktiven“ Serum ein positives Resultat gegeben hat.

Diese größere Empfindlichkeit der „aktiven“ Sera für die Wassermannsche Reaktion ist zuerst von Sachs und Altman, dann von Gross und Volk und Boas beobachtet worden, aber diese Forscher haben vor der Benutzung der „aktiven“ Sera für die Syphilisreaktion gewarnt, da bei der Benutzung derselben die Reaktion nicht mehr spezifisch sei.

Bei meinen sehr zahlreichen Beobachtungen und besonders bei den Versuchen mit den Säuglingsseris konnte ich mich aber oft genug davon überzeugen, daß die Ergebnisse der Versuche mit den „aktiven Seris“ viel zuverlässiger sind, als diejenigen, mit den „inaktiven“ Seris.

Von besonderem Interesse ist es, daß die Säuglingssera, wie aus der vorausgegangenen Schilderung hervorgeht, einerseits bei der Wechselwirkung mit den Antigenen, die per se das Komplement binden, die

Komplementbindung verhindern, andererseits aber weder Komplement noch Ambozeptor in den ersten Monaten besitzen.

Es muß dabei hervorgehoben werden, daß die „aktiven“ Sera im Laufe von höchstens 2—3 Tagen untersucht werden müssen, denn diese Sera bekommen, wie ich feststellen konnte, sehr schnell die Fähigkeit, Komplement zu binden, viel schneller also, als die inaktivierten Sera.

Weiter ist zu bemerken, daß sicherluetische, aber ikterisch verfärbte Säuglingssera im „aktiven“ Zustande häufiger als im „inaktiven“, im allgemeinen aber selten die Komplementbindung geben.

Umgekehrt ist es bei denjenigen Säuglingsseris, denen viel Chylus beigemischt ist und die häufig milchig-weiß aussehen; diese Sera geben eine stärker ausgebildete Reaktion im „inaktiven“ Zustande.

Nach Feststellung aller dieser Tatsachen wurde beschlossen, die Wassermannsche Reaktion bei den Findelkindern wiederholt auszuführen, und dieselben nur dann zur Erziehung aufs Land zu geben, wenn die wiederholte Blutuntersuchung ein negatives Resultat ergeben hat.

Die Untersuchungen wurden immer gleichzeitig mit frischem und inaktiviertem Serum angestellt.

Im ganzen ist die Wassermannsche Reaktion bei den Kindern 1108 Mal ausgeführt worden; die Ergebnisse der Untersuchungen sind folgende: (Tabelle 5).

Tabelle 5.

Zahl der Untersuchungen	Negative Resultate	Positive Resultate	Prozente der positiven Resultate
1108	955	153	13,81

Wenn man aber die Zahl der positiven Fälle gesondert auf die erste und wiederholte Untersuchungen berechnet, so sind die prozentualen Verhältnisse folgende: (Tabelle 6).

Tabelle 6.

Welche Untersuchungen	Zahl der Untersuchungen	Negative Resultate	Positive Resultate	Prozente der positiven Resultate
1.	732	649	83	11,33
2.	308	258	50	16,23
3.	68	48	20	29,41

Aus der Tabelle 6 ist zu entnehmen, daß bei der ersten Untersuchung die Wassermannsche Reaktion nur in 11,33 Proz. der Fälle positiv war, bei der zweiten Untersuchung in 16,23 Proz. und bei der dritten in 29,41 Proz., d. h. bei jeder weiteren Untersuchung ist die Zahl der positiven Reaktionen gestiegen.

Daß diese Steigerung der Zahl der positiven Resultate der Wassermannschen Reaktion mit dem steigenden Alter der Säuglinge im Zusammenhang steht, ist aus der folgenden Tabelle 7 zu entnehmen, in der die der Untersuchung unterzogenen Säuglinge dem Alter nach zusammengestellt sind.

Aus der Tabelle 7 geht klar hervor, daß je älter die Kinder werden, desto häufiger bei ihnen die Wassermannsche Reaktion positiv ausfällt. Dieser enge Zusammenhang zwischen der Häufigkeit der positiven

Tabelle 7.

Alter <sup>1)</sup>	Zahl der Untersuchungen	Negative Resultate	Positive Resultate	Prozente der positiven Resultate
bis 1 Monat	490	465	25	5,10
1— 2 Monate	246	224	22	8,94
2— 3 "	138	112	26	18,84
3— 4 "	81	60	21	25,92
4— 6 "	67	46	21	31,34
6— 9 "	33	21	12	36,36
9—12 "	13	6	7	53,85
Ueber 1 Jahr	40	21	19	47,50
Zusammen	1108	955	153	13,81

Resultate und dem Alter der Kinder tritt auch bei den gesonderten Betrachtungen der ersten, zweiten und dritten Untersuchungen zutage, wie die folgenden Tabellen 8, 9 und 10 zeigen.

Tabelle 8.  
Erste Untersuchungen.

Alter	Zahl der Untersuchungen	Negative Resultate	Positive Resultate	Prozente der positiven Resultate
bis 1 Monat	484	459	25	5,17
1— 2 Monate	78	71	7	8,97
2— 3 "	49	39	10	20,41
3— 4 "	31	24	7	22,54
4— 6 "	34	24	10	29,41
6— 9 "	17	11	6	35,29
9—12 "	11	5	6	54,55
Ueber 1 Jahr	28	16	12	42,85
Zusammen	732	649	83	11,33

Tabelle 9.  
Zweite Untersuchungen.

Alter	Zahl der Untersuchungen	Negative Resultate	Positive Resultate	Prozente der positiven Resultate
bis 1 Monat	6	6	0	0
1— 2 Monate	161	148	13	8,07
2— 3 "	71	57	14	19,72
3— 4 "	26	20	6	23,03
4— 6 "	25	18	7	28,00
6— 9 "	8	4	4	50,00
9—12 "	1	1	0	0
Ueber 1 Jahr	10	4	6	60
Zusammen	308	258	50	16,23

1) Das Alter der Säuglinge, die geheim untergeschoben werden, kann selbstverständlich nur ungefähr bestimmt werden, aber in den Stufen, die in der Tabelle angenommen sind, werden sich die Fehler wohl ausgleichen.

Tabelle 10.  
Dritte Untersuchungen.

Alter	Zahl der Untersuchungen	Negative Resultate	Positive Resultate	Prozente der positiven Resultate
1— 2 Monate	7	5	2	28,57
2— 3 „	18	16	2	11,11
3— 4 „	24	16	8	33,33
4— 6 „	8	4	4	50,00
6— 9 „	8	6	2	25,00
9—12 „	1	—	1	100,00
Ueber 1 Jahr	2	1	1	50,00
Zusammen	68	48	20	29,41

Wenn die prozentualen Verhältnisse der positiven Wassermannschen Reaktionen in ihrer Beziehung zum Alter der Säuglinge bei den ersten, zweiten und dritten Untersuchungen, die in den Tabellen 8, 9 und 10 zusammengestellt sind, miteinander verglichen werden, so tritt deutlich zutage, daß bei der ersten und zweiten Untersuchung (Tabelle 8 und 9) die Zahl der positiven Resultate mit dem Alter der Säuglinge allmählich steigt, und nur bei der dritten Untersuchung ist dieser Zusammenhang nicht ganz gesetzmäßig, wenn auch hier im höheren Alter die Zahlen der positiven Fälle größer sind als im jüngeren.

Wenn wir aber die Tabelle 10 näher betrachten, so sehen wir, daß erstens die dritten Untersuchungen im ganzen 68mal ausgeführt wurden, und zweitens von diesen 49mal die Untersuchungen im Alter von 1 bis 4 Monaten ausgeführt worden sind.

Die Tatsache, daß schon im frühesten Alter die Wassermannsche Reaktion 3mal wiederholt wurde, spricht dafür, daß in diesen Fällen klinische Zeichen der hereditären Syphilis konstatiert wurden, was auch endlich durch die dritte Blutuntersuchung bestätigt werden konnte.

Wie weiter oben erwähnt wurde, hat die Wassermannsche Reaktion in zahlreichen Fällen, in denen keine wahrnehmbaren Zeichen hereditärer Lues vorhanden waren, ein positives Resultat geliefert, und erst später sind die klinischen Zeichen der Syphilis zutage getreten. Es sind aber auch solche Fälle beobachtet worden, in denen schon bei der Aufnahme Zeichen der hereditären Syphilis vorhanden waren und bei denen die Wassermannsche Reaktion wiederholt ein negatives Resultat lieferte.

Die Zahl dieser Fälle ist etwas vermindert worden, nachdem die parallelen Versuche mit frischem Serum eingeführt wurden, und die Syphilisreaktion bei diesen Säuglingen 3-, manchmal sogar 4mal ausgeführt wurde; diese Fälle hätte man wahrscheinlich nur ausnahmsweise beobachten können, wenn die Wassermannsche Reaktion bei solchen Säuglingen auch im Alter von 6—9 Monaten ausgeführt wurde.

Von den Beobachtungen beim Erwachsenen ausgehend, daß die negative Wassermannsche Reaktion in einigen syphilisverdächtigen Fällen positiv wird; wenn den Kranken Quecksilberpräparate oder Salvarsan „provokatorisch“ injiziert wird, ist auch den Säuglingen, bei denen der Verdacht auf Lues vorlag, im Laufe von mehreren Tagen Calomel per os verabreicht worden.



In einigen Fällen wurde Calomel schon vor der ersten, in anderen vor der zweiten und dritten Blutentnahme verabreicht, aber, wie aus der Tabelle 11 zu entnehmen ist, ohne bemerkbaren Erfolg.

Tabelle 11.

Unter- suchung	Alter der Säuglinge	Zahl der Untersuchungen	Positive Resultate	Negative Resultate	Prozente der positiven Resultate
1.	bis 1 Monat	66	5	61	7,57
2.	1—2 Monate	51	3	48	5,88
3.	2—3 „	6	1	5	16,66

Ob dieser Mißerfolg damit im Zusammenhang steht, daß den Säuglingen das Präparat per os und nicht auf anderem Wege einverleibt wurde, das zu entscheiden, habe ich nicht Gelegenheit gehabt.

Bevor ich die Ergebnisse meiner Untersuchungen zusammenfasse, möchte ich noch kurz auf die wichtigsten früheren Untersuchungen eingehen:

Wassermann war der erste, der durch die von ihm entdeckte Reaktion beim Kinde die Syphilis diagnostizieren konnte, und kurz darauf ist dies in vereinzelt Fällen auch zahlreichen anderen Autoren gelungen.

Bar und Daunay haben in einer größeren Zahl von Fällen die Frauen vor und nach dem Partus, wie auch deren Kinder serologisch untersucht. Sie bekamen bei den Kindern, deren Mütter klinische Zeichen von Syphilis aufwiesen, in 62,3 Proz. der untersuchten Fälle eine positive Reaktion.

Die Autoren konnten feststellen, daß die Wassermannsche Reaktion bei den Kindern weniger oft positiv ausfällt als bei den Müttern, wenn die letzteren eine floride Syphilis haben, und umgekehrt in den Fällen, wo die Lues der Mütter nur suspekt ist, geben die Kinder öfter positive Reaktion als die Mütter.

Wird eine syphilitische Frau während der Gravidität energisch behandelt, dann kann das geborene Kind eine negative Reaktion geben.

Die Autoren sind aber der Meinung, daß trotz der negativen Reaktion dieluetischen Erscheinungen später zum Vorschein kommen können, und auch die Reaktion positiv werden kann.

Außerdem wurde von den Autoren der Wert der Syphilisreaktion beim Neugeborenen und Säugling bezweifelt, und zwar aus dem Grunde, weil durch deren Sera, die häufig Gallenfarbstoff enthalten oder milchig getrübt sind, die Hämolyse verzögert wird.

Bauer betont auch, daß die Sera der Neugeborenen, die im ersten Halbjahr keinen Ambozeptor haben, verschieden starke, antikomplementäre Wirkung besitzen. Er hat mit Hilfe seiner Modifikation 201 Sera von Neugeborenen und Säuglingen untersucht und in 22 Fällen (4 Neugeborene) ein positives Resultat erhalten.

Außerdem hat er bei 125 Müttern das Placentarblut und bei 127 Neugeborenen das Nabelschnurblut einer Untersuchung unterzogen, und bekam in 4 Fällen, bei Mutter und Kind, in 6 Fällen nur bei der Mutter, ein positives Resultat. Positive Syphilisreaktion bei scheinbar gesunden Müttern und Kindern hat in einigen Fällen auch Bab erhalten.

Opitz hat unter 104 Frauen 10mal bei der Wassermannschen Reaktion ein positives Ergebnis beobachtet; von diesen 10 Fällen war nur bei 2 Frauen die Infektion ermittelt, bei 2 anderen Frauen zeigten die Kinder später Erscheinungen.

Nur bei 2 Kindern der 10 Mütter mit positiver Wassermannscher Reaktion war dieselbe auch positiv. Diese Beobachtungen brachten Opitz in gleicher Weise wie Bab zu der Ansicht, daß nicht die Spirochäten, sondern die durch deren Anwesenheit im Körper des Kindes gebildeten Stoffe den Weg durch die placentare Scheidewand zur Mutter finden und in deren Blut ähnliche Veränderungen bewirken, wie sie die Spirochäten selbst hervorrufen.

Opitz ist der Ansicht, daß neugeborene Kinder nur in der Minderzahl der Fälle in ihrem Blute die Stoffe zu bilden imstande sind, die die Reaktion auslösen.

Bab kommt aber auf Grund der erwähnten Beobachtungen zu dem Schlusse, daß der positive Ausfall der Luesreaktion im Falle des Collesschen und Profetaschen Gesetzes noch nicht strikt eine latente Lues beweist.

**Knöpfelmacher** und **Lehndorf** haben im Laufe längerer Zeit bei 135 Müttern luetischer Kinder die Syphilisreaktion ausgeführt, und hatten bei denjenigen, die angeblich keine Lues hatten, in 62,5 Proz., und bei den Müttern, die eine Infektion zugestanden und zum Teil behandelt wurden, in 74,2 Proz. eine positive Reaktion.

Die Autoren behaupten, daß kurz nach der Geburt eines luetischen Kindes die Wassermannsche Reaktion bei etwa 90 Proz. der Mütter positiv ist, daß aber allmählich die Häufigkeit der Reaktion bei den Müttern sinkt und noch nach vielen Jahren nur noch 44—50 Proz. beträgt, woraus der Schluß gezogen wird, daß alle Mütter luetischer Kinder sich bezüglich der Wassermannschen Reaktion ebenso verhalten, wie Syphiliskranke.

Doch mag dabei, sagen demgegenüber die Autoren selbst, bei dieser Zusammenstellung, wie das ja immer bei verhältnismäßig kleinem Material vorkommen muß, der Zufall walten.

Andererseits muß es nach **Knöpfelmacher** und **Lehndorf** als möglich angesehen werden, daß der Mutter vom Foetus toxische Produkte zugeführt werden, deren Kreisen im mütterlichen Organismus erst die Bildung der zur positiven Reaktion notwendigen Körper anregt.

Diese Annahme soll auch die Erklärung dafür geben, warum, wie es unter anderem **Opitz** gefunden hat, bei einigen von den Kindern luetischer Mütter mit positiver Wassermannscher Reaktion die Reaktion positiv, bei den anderen negativ gefunden wird.

**Halberstädter**, **Müller** und **Reiche** untersuchten das Blut von 68 Kindern verschiedenen Alters, bei denen klinisch Verdacht auf Syphilis oder gar gesichert war, auf die Syphilisreaktion, und bekamen in 30 Fällen ein positives, in 38 Fällen ein negatives Resultat.

Von den 30 positiven Fällen hatten alle die Syphilis, bei den negativ reagierenden handelte es sich in 6 Fällen um latente Syphilis, die bereits behandelt wurde, in 2 Fällen waren klinisch Zeichen der Syphilis vorhanden, in einem Falle haben sich die syphilitischen Zeichen nachträglich entwickelt, und bei den übrigen 29 Kindern konnte auch nach längerer Beobachtungszeit keine Syphilis konstatiert werden.

**Thomson** und **Boas** haben bei 127 Müttern und ihren neugeborenen Kindern die Syphilisreaktion ausgeführt. Den Müttern wurde das Blut kurz vor oder nach der Entbindung entnommen. Bei den Kindern ist die Reaktion nur in 87 Fällen mit dem Nabelstrangblut angestellt worden. Bei den Müttern war die Reaktion in 78 Fällen positiv und in 49 negativ. Von den letzteren erwiesen sich 20 als syphilitisch.

Von den Kindern der 78 positiv reagierenden Mütter wiesen 61 entweder gleich nach der Geburt, oder während der Beobachtungszeit (6—12 Monate) Zeichen der Syphilis auf; die übrigen 29 blieben dauernd gesund.

Bei 25 der negativ reagierenden Mütter ist eine unmittelbar vorausgegangene Behandlung verzeichnet; sie haben 16 syphilitische Kinder geboren; von den übrigen 24, die unmittelbar vor der Geburt nicht behandelt wurden, sind nur 4 syphilitische Kinder geboren worden.

Was die Syphilisreaktion bei den Kindern anbelangt, so war dieselbe bei 26 von 41 syphilitischen Kindern und bei 4 von 46 nicht-syphilitischen positiv.

**Thomson** und **Boas** wollen bei 4 Kindern syphilitischer Mütter mit positiver Wassermannscher Reaktion während der Geburt eine positive Syphilisreaktion beobachtet haben, die kurz darauf verschwand. Aus ihren Beobachtungen ziehen sie den Schluß, daß diejenigen Stoffe, die die positive Syphilisreaktion beim Kinde bewirken, die Placenta der syphilitischen Mutter passieren, ohne daß dabei das Kind infiziert wird, und daß andererseits im Organismus des latent syphilitischen Kindes während der ersten Monate eine Vermehrung der Stoffe stattfindet, die bei der positiven Wassermannschen Reaktion wirksam sind.

**Baisch** hat in 140 Fällen die Mütter serologisch und deren Kinder bakteriologisch und teils serologisch untersucht.

Von den Müttern haben 102 eine positive Syphilisreaktion gegeben, und von diesen konnten bei 75 keine klinischen Zeichen der Syphilis nachgewiesen werden, obgleich deren Kinder als sicher syphilitisch festgestellt wurden. In 12 Fällen war die Syphilisreaktion bei den Müttern negativ, obgleich bei ihren Kindern Spirochäten nachgewiesen werden konnten. Auch das Umgekehrte konnte der Autor konstatieren.

Auf Grund seiner Untersuchungen kommt **Baisch** zu dem Schlusse, daß die Hemmungskörper, die die Syphilisreaktion bedingen, weder vom Kinde auf die Mutter, noch umgekehrt übergehen, und daß sämtliche Mütter syphilitischer Kinder, wie auch sämtliche Kinder syphilitischer Mütter syphilitisch sind.

Demgegenüber kommt **Trinchese** an der Hand von 100, sehr sorgfältig auf Spirochäten untersuchten Kinderleichen und entsprechenden Placenten zu dem Schlusse, daß der Spirochätenbefund in den Placenten ohne Ausnahme mit dem Spirochätenbefund

in den kindlichen Organen übereinstimmt, und deshalb soll die Verbreitung der Spirochäten durch den Blutstrom, in dem sie schwimmen, geschehen.

T. hat in der Tat auch in sämtlichen Placenten die Spirochäten nachweisen können. Von besonderer Bedeutung ist es, daß die Spirochäten in den intervillösen Räumen der Placenten von Frauen nachgewiesen wurden, bei denen die Wassermannsche Reaktion negativ war.

Jede Frau, welche einluetisches Kind gebiert, hat dieses, sagt Trinchese, durch die im eigenen Blute zirkulierenden Spirochäten infiziert. Andererseits erscheint es unmöglich seiner Meinung nach, daß eine Frau eine so große Menge von Spirochäten im Innern des Uterus in ihrer eigenen Frucht trägt, ohne selbst dabei zu erkranken. Die Infektion muß aber, betont Trinchese mit Recht, immer von der Mutter ausgehen; die Spirochäten gelangen nämlich mit dem Sperma ins Endometrium und infizieren ausnahmslos die Frau, die nachträglich die Krankheit auf das Kind überträgt.

Gräfenberg hat bei sämtlichen 39luetischen Föten Spirochäten in der Nabelschnur nachgewiesen. Die Wassermannsche Reaktion fand er häufig positiv bei den mazerierten und nur sehr selten bei den lebend geborenen Kindern, trotz manifester oder latenter Lues der Mütter.

Mulzer und Michaelis haben unter 44 Säuglingen mit manifester Lues 42mal eine positive und 2mal eine negative Syphilisreaktion erhalten. In 2 dieser Fälle wurde die Reaktion erst mit dem Auftreten syphilitischer Symptome positiv. Es ist dabei aber zu bemerken, daß die Autoren „möglichst nicht unter 0,05 ccm Serum“ zum Versuche benutzt haben, so daß die gesamte Flüssigkeitsmenge der 5 beim Versuch gebrauchten Komponenten in jedem Röhrchen nur 0,5 ccm betrug!

Der Schluß, zu dem die Autoren kommen, lautet, daß die Mütter syphilitischer Säuglinge in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle positiv reagieren. Bei Säuglingen mit manifester Lues wird in 96 Proz. der Fälle eine positive Reaktion erhalten; sie erscheint aber erst mit dem Auftreten manifesterluetischer Symptome.

Leroux und Labbé haben von 108 Kindern mit Frühsyphilis im Alter von 1 bis 36 Monaten 67mal eine positive Wassermannsche Reaktion erhalten. Dagegen haben von 20 Fällen im Alter bis zu 15 Jahren mit Lues tarda 17, und von 21 Kindern mit latenter Lues nur 1 eine positive Wassermannsche Reaktion gegeben.

In einigen Fällen konnten die Autoren auch die Eltern und Geschwister untersuchen, und fanden von 19 Vätern bei 8, und unter 72 Müttern bei 52 eine positive Syphilisreaktion. Von den untersuchten Müttern wiesen 52 auch nicht die geringsten syphilitischen Erscheinungen auf und stellten die Infektion in Abrede; es haben aber von diesen 37, d. h. 71 Proz., eine positive Reaktion gegeben.

Von den Kindern dieser Mütter reagierten 39 positiv und 11 negativ.

Vergleicht man die Ergebnisse der parallelen Wassermannschen Reaktionen bei Mutter und Kind, so ergibt sich aus den Untersuchungen der Autoren folgendes:

31mal	bei Mutter und Kind	positive Reaktion,
7mal	„ „	negative „
9mal	„ „	positive, beim Kind negative Reaktion,
6mal	„ „	negative, „ „ positive „

Leroux und Labbé folgern aus ihren Untersuchungen, unter denen 14 genau untersuchte Familien sich befinden, daß das Kind fast ausnahmslos syphilitische Zeichen zeigt, wenn beide Eltern eine positive Syphilisreaktion geben; im entgegengesetzten Falle ist das Kind nur dystrophisch oder sogar gesund.

Nur selten haben die Autoren beim Kinde eine positive Reaktion beobachtet, wenn der Vater positiv, die Mutter dagegen negativ reagiert hat.

Auch Ledermann hat Gelegenheit gehabt, ganze Familien serologisch zu untersuchen. Von 41 Kindern im Alter von 3 Wochen bis zu 15 Jahren, die negativ reagierten, ist Syphilis der Eltern oder eines Elternteils nachgewiesen worden. Unter 44 Kindern mit positiver Reaktion gelang es bei 20, eine Familienanamnese zu erheben, und in 4 Fällen den Vater, in 13 Fällen die Mutter und in 3 Fällen die Geschwister serologisch zu untersuchen. Von den Vätern zeigten 2 eine positive und 2 eine negative Reaktion. Die Frauen der letzteren hatten Lues. Von den Müttern reagierten 11 positiv und 2 negativ, aber auch diese hatten Syphilis. Außerdem konnte bei 8 Vätern und 7 Müttern nach den gemachten Angaben Lues festgestellt werden.

Ferner hat Ledermann eine Anzahl hautkranker Kinder serologisch untersucht und bei 72 Kindern, die keine Zeichen von Syphilis hatten, die Wassermannsche Reaktion negativ gefunden.

Björkenheim hat bei 58 Kindern, 50 Müttern und 14 Vätern die Syphilisreaktion ausgeführt. Von 50 Fällen, in denen das Serum der Mütter und der Kinder parallel untersucht wurde, ist die Reaktion in 14 Fällen bei Mutter und Kind verschieden ausgefallen. Von diesen 14 Fällen gab in 8 Fällen die Mutter negative und das Kind

positive Reaktion; in 1 von diesen Fällen hat der Vater eine stark positive Reaktion gegeben.

In 34 Fällen hatte die Mutter Syphilis gehabt; von diesen war bei 21 die Reaktion positiv. In 5 Fällen wurde auch der Vater untersucht, von denen 3 eine positive Reaktion lieferten. Von 39 Kindern der 34 luetischen Mütter hatten 22 eine positive Reaktion. Von 8 dieser Kinder mit luetischen Symptomen reagierten 7 positiv, und von 31 Kindern ohne Symptome gaben 14 eine positive Reaktion.

Im ganzen haben von den Müttern 54 Proz., von den Kindern 51,7 Proz. und von den Vätern 47 Proz. positiv reagiert.

Aus seinen Beobachtungen zieht Björkenheim den Schluß, daß die Wassermannsche Reaktion die paterne Infektion nicht ausschließt und daß in den meisten Fällen kongenitaler Lues die Mutter positiv reagiert.

Krefting hat mit Seris von 20 Müttern syphilitischer Kinder, bei denen anamnestisch keine Syphilis vorlag, bei sämtlichen eine positive Syphilisreaktion erhalten. Aus seinen eigenen Beobachtungen, wie aus der eingehenden Nachforschung in der Literatur zieht Krefting den Schluß, daß die einzig mögliche Uebertragungsart der Syphilis die intrauterine Infektion des Foetus durch die Mutter ist. Da die Infektionskrankheiten überhaupt nicht vererbt werden, so kann es auch, nach Krefting, keine germinative Uebertragung der Syphilis geben, und deshalb muß bei der Syphilis der Ausdruck „hereditär“ durch „kongenital“ ersetzt werden.

Pillon hat von 17 Kindern, bei denen kein Verdacht auf Syphilis vorlag, bei 15 mit dem Nabelschnurblut positive Syphilisreaktion erhalten. Er konnte auch keine konstante Uebereinstimmung zwischen der Reaktion bei Mutter und Kind feststellen, und ist deshalb der Meinung, daß weder eine negative Reaktion gegen, noch eine positive Reaktion für Lues spricht.

Sera und Gentili fanden auch keine Uebereinstimmung zwischen den Reaktionen bei Mutter und Kind. Bei den syphilitischen Föten hatten sie vor dem Erscheinen syphilitischer Symptome positive Reaktion. Wird die Mutter vor der Niederkunft mit Quecksilber behandelt, dann liefert nach den Autoren das Kind nach der Geburt ein negatives Resultat.

Endlich seien noch die Untersuchungen von Bering erwähnt, in denen der Autor über die Eltern von kongenitalen Syphilitikern berichtet. Von den 37 beobachteten Fällen im Alter von 5–50 Jahren gaben 4mal die Väter eine frühere Infektion zu. 19mal wechselten bei den Eltern gesunde und kongenital syphilitische Kinder miteinander ab. Wegen vorausgegangener oder nachfolgender Aborte konnte 8mal eine syphilitische Erkrankung der Mutter vermutet werden. 6mal wußte die Mutter von einer syphilitischen Infektion. Die serologische Untersuchung der Mutter ergab 8mal ein positives Resultat, obgleich klinisch alle völlig frei von syphilitischen Symptomen waren. Die Wassermannsche Reaktion wurde bei 33 von den 37 kongenitalen Syphilitikern ausgeführt, und gab in 27 Fällen ein positives Resultat.

Fassen wir die Ergebnisse der früheren Untersuchungen zusammen, so bekommen wir ein sehr buntes Bild:

Während der größte Teil der Forscher auf Grund der neueren Forschungsergebnisse nur die materne Infektion anerkennt, so glauben Bab, Gräfenberg und Björkenheim immer noch, eine paterne Infektion nicht ausschließen zu können. Gräfenberg behauptet sogar, daß neben der germinativen Infektion die materne oder placentare in den Hintergrund tritt.

Ein Teil der Autoren, wie Bab, Knöpfelmacher und Lehn-dorf, Thomsen und Boas u. a., ist der Meinung, daß diejenigen Stoffe, die die positive Syphilisreaktion bewirken, die Placenta passieren können. Baisch glaubt dagegen, daß diese Stoffe in demjenigen Organismus erzeugt werden, in dem sie gefunden sind, und daß die Placentascheidewand für dieselben unübersteigbar ist. Auch Wechselmann ist der Meinung, daß diese Stoffe die Placenta nicht oder nicht immer passieren. Opitz behauptet, daß die Körper, die die positive Syphilisreaktion bedingen, beim Kinde nur selten gebildet werden, und daß die Stoffwechselprodukte der Spirochäten, die die Bildung dieser Körper anregen, die Placenta passieren, vom Kinde zur Mutter übergehen und dort die Bildung der Hemmungskörper hervorrufen. Das letztere nehmen auch Bab, Knöpfelmacher und Lehn-dorf an.

Wechselmann, Thomsen und Boas, Bar und Daunay u. a. glauben, daß beim Kinde in den ersten Lebensmonaten die spezifischen Hemmungskörper vermehrt werden. Die Mehrzahl der Autoren ist der Meinung, daß jede Mutter eines syphilitischen Kindes, wie auch jedes Kind einer syphilitischen Mutter syphilitisch ist; es gibt aber auch Forscher, die diese Ansicht nicht teilen. Bab, Gräfenberg, Bar und Daunay und Pillon haben auch den positiven Ausfall der Syphilisreaktion aus verschiedenen Gründen als für Syphilis nicht beweisend erklärt. Leroux und Labbé wollen zwischen den Reaktionen der Eltern und Kinder einen gewissen gesetzmäßigen Zusammenhang beobachtet haben, andere Autoren konnten dagegen keine derartige Gesetzmäßigkeit feststellen.

Wenn man aber von den geschilderten, einander widersprechenden Schlußfolgerungen der einzelnen Autoren absieht und nur die tatsächlichen Ergebnisse ihrer Versuche näher betrachtet, so kann man sich davon überzeugen, daß diese viel Gemeinsames, oft sogar Uebereinstimmendes haben.

Sämtliche Autoren haben in der Tat durch die Wassermannsche Reaktion die Syphilis bei Mutter und Kind nachweisen können, und beinahe übereinstimmend wurde konstatiert, daß die Ergebnisse der Reaktion weder von der Intensität des Krankheitsprozesses, noch von dem Vorhandensein oder Nichtvorhandensein klinischer Zeichen abhängig sind.

Uebereinstimmend haben die Versuche sämtlicher Autoren den Beweis dafür geliefert, daß zwischen den Reaktionsergebnissen bei Mutter und Kind nicht immer ein Parallelismus besteht, und daß die Reaktion beim deutlich syphilitischen Kinde negativ, bei seiner symptomfreien und scheinbar vollkommen gesunden Mutter positiv, wie auch umgekehrt ausfallen kann.

Diese zuletzt erwähnte Tatsache, die beinahe von sämtlichen Autoren konstatiert wurde, hat auch am meisten Schuld daran, daß die Autoren, um dieselbe zu erklären, von ähnlichen und sogar identischen Versuchsergebnissen ausgehend, zu verschiedenen, oft einander widersprechenden Schlüssen gekommen sind.

Andererseits können die erwähnten Widersprüche dadurch erklärt werden, daß die Forscher überhaupt mit einem zu kleinen Untersuchungsmaterial operiert haben, das je nach dem Autor quantitativ und qualitativ verschieden war.

Wenn die einen Autoren nur die Mütter syphilitischer Kinder untersucht haben, so sind von den anderen die Mütter und deren Kinder einer serologischen Untersuchung unterzogen worden.

Das Blut zur Untersuchung wurde bei der Mutter wie beim Kind von verschiedenen Stellen und zu verschiedener Zeit entnommen. In einem Falle wurde bei Mutter und Kind das Blut während der Geburt aus der Placenta bzw. aus der Nabelschnur entnommen; im anderen dagegen kürzere oder längere Zeit bis mehrere Jahre nach der Geburt und aus der Armvene.

Einige der Mütter und Kinder waren vor der serologischen Untersuchung, zum Teil sogar wiederholt und energisch, behandelt, bei den anderen ist keine spezifische Therapie der Syphilisreaktion vorausgegangen, was für das Ergebnis der Reaktion nicht ohne Bedeutung ist.

Endlich haben einige Autoren ihre serologischen Untersuchungen mit dem Blute von totgeborenen und sogar mazerierten Föten ausgeführt und diese mit den bei lebenden Kindern angestellten verglichen.

Auch die Technik der Versuche, die doch für das Ergebnis der Reaktion entscheidend ist, war, soweit man aus den wenigen Angaben schließen kann, bei den einzelnen Autoren eine verschiedene.

Wenn man alle diese Abweichungen in den Versuchen der einzelnen Autoren bei der Beurteilung von deren Versuchsergebnissen in Betracht zieht und dabei von der nicht bewiesenen und nicht zutreffenden Voraussetzung, daß die Syphilisreaktion durch spezifische „Hemmungsstoffe“ oder „Reagine“ bedingt wird, absieht, so kann man aus den oben erwähnten Beobachtungen viel Lehrreiches entnehmen, was zur Entscheidung der Hereditätsfrage beitragen kann.

In gleicher Weise muß die Behauptung, daß eine germinative Infektion der Syphilis möglich ist, allgemein als falsch anerkannt werden, denn sämtliche experimentellen, klinischen und pathologisch-anatomischen Erfahrungen lehren, daß die Infektionskrankheiten beim Tiere nicht vererbt, sondern nur angeboren sein können.

Eine germinative Infektion muß a priori schon aus dem Grunde ausgeschlossen werden, weil, wenn ein für das Tier pathogener Krankheitserreger in das befruchtete Ei eindringen sollte, er dasselbe infizieren und seine Entwicklung stören oder ganz aufheben muß.

Und die Tatsache, daß Finger, Uhlenhuth und Mulzer die Infektiosität des Spermas auf experimentellem Wege nachgewiesen haben, spricht nur dafür, daß die Infektion ex patre möglich ist, aber nur in der Weise, daß der Vater nicht direkt den Foetus infiziert, sondern die Mutter, und von der Mutter der Krankheitserreger durch die Placenta auf den Foetus übergeht.

Ist der Foetus zur Zeit der Infektion vollständig entwickelt und kräftig, dann kann er lebend zur Welt kommen; ist dies nicht der Fall, dann stirbt er im Uterus ab.

Daß die Krankheitserreger die Placenta passieren und von der Mutter auf den Foetus übergehen können, hatte ich wiederholt und bei verschiedenen Krankheiten zu konstatieren die Gelegenheit.

Bei Febris recurrens<sup>1)</sup> habe ich in 18 Fällen die Unterbrechung der Schwangerschaft im 3.—9. Monat beobachtet, und in 4 von diesen Fällen (2 lebend- und 2 totgeborene) habe ich das Spirillum Obermeyeri im Kinderblut nachweisen können.

Auch durch den Flecktyphus wird die Gravidität immer unterbrochen, und bei einem totgeborenen Foetus konnte ich im Herzblute, wie auch in der Milz und dem Knochenmark den Diplobacillus exanthematicus nachweisen.

Von einer Graviden, die an Variola vera erkrankte, ist ein reifes Kind geboren worden, dessen Körper mit zahlreichen Pusteln bedeckt war.

Endlich habe ich auch im Herzblute eines Foetus, der bei der Sektion im Uterus einer Leprösen gefunden wurde, die Leprabacillen nachweisen können<sup>2)</sup>.

Alle diese, wie zahlreiche von anderen Autoren festgestellte ähnliche Tatsachen bezeugen zur Evidenz, daß Krankheitserreger die Pla-

1) Virchows Arch. Bd. 194. Beih. p. 38—168.

2) Berlin. klin. Wochenschr. 1913. No. 6.

centa passieren und von der Mutter auf den Foetus übergehen.

Bei der Syphilis hat Trinchese in sämtlichen untersuchten zahlreichen Placenten, auch in den intervillösen Räumen derselben, und Gräfenberg in sämtlichen Nabelschnüren der Kinder die Spirochäten nachgewiesen und damit den Beweis erbracht, daß auch der Syphiliserreger die Placenta passieren kann und es regelmäßig in jedem Falle tut.

Aus dieser Tatsache muß gefolgert werden, daß jede Mutter eines syphilitischen Kindes, wie auch jedes Kind einer syphilitischen Mutter syphilitisch sein muß.

Auf Grund dieser Tatsache muß die Ernährungsfrage für die syphilitischen Kinder in dem Sinne entschieden werden, daß jede Mutter ihr eigenes Kind säugen darf und muß.

Was die Findelkinder anbelangt, so dürfen diese an die Ammenbrust nicht angelegt werden, bis die Syphilisreaktion bei diesen wie bei den Ammen angestellt worden ist.

Es sind zwar, wie aus der vorausgegangenen Schilderung folgt, die Ansichten der Autoren über den Wert der Syphilisreaktion beim Säugling widersprechend; das wird aber nicht mehr befremden, wenn man die oben geschilderte Eigentümlichkeit der Säuglingssera, die bei den Versuchen benutzt wurden, wie auch die Verschiedenheit der Versuchsbedingungen bei den einzelnen Autoren in Betracht zieht.

Aus meinen in den Tabellen 7, 8, 9 und 10 zusammengestellten Versuchen folgt, daß die Zahl der beim Säugling positiv ausfallenden Syphilisreaktionen um so größer ist, je höher das Alter derselben ist.

Diese Tatsache im Zusammenhang mit dem nachgewiesenen hohen Prozentsatz von Syphilis bei den von mir untersuchten Ammen stellt an die Findelhäuser die praktische Forderung, daß sämtliche aufgenommenen Ammen und Säuglinge einer serologischen Untersuchung unterzogen werden, und bei den Säuglingen, die wenigstens 4—6 Monate im Findelhaus unter ärztlicher Beobachtung bleiben müssen, die Syphilisreaktion wiederholt ausgeführt werden muß.

### **Zusammenfassung.**

1) Es gibt keine germinative, sondern nur eine kongenitale Syphilisinfektion.

2) Die kongenitale Infektion kann nur auf placentarem Wege, aber in gleicher Weise von der Mutter wie vom Vater (durch die Mutter) erfolgen.

3) Sämtliche Mütter syphilitischer Kinder, wie auch sämtliche Kinder syphilitischer Mütter sind syphilitisch.

4) Bei den Müttern, wie bei den Kindern kann die Syphilis durch die Wassermannsche Reaktion nachgewiesen werden, wenn diese nur zu entsprechender Zeit und ganz einwandfrei ausgeführt wird.

5) Bei den Säuglingen ist die Zahl der positiven Syphilisreaktionen um so größer, je höher das Alter derselben ist.

6) Das steht mit der Eigentümlichkeit der Säuglingssera in Zusammenhang, die einerseits in einem Mangel an Komplement und Ambo-

zeptor in den ersten Lebenswochen, und andererseits in einer starken Vermehrung der die Komplementbindung hemmenden Stoffe besteht.

7) Die Versuche müssen mit „inaktivierten“ wie auch mit „aktiven“ Sera der Säuglinge parallel angestellt werden, denn die „aktiven“ Sera reagieren zu einer Zeit positiv, wo die „inaktivierten“ noch eine negative Reaktion geben.

8) In dieser Weise muß die Syphilisreaktion bei sämtlichen Säuglingen und Ammen, die im Findelhaus aufgenommen sind, ausgeführt werden; bei den negativ reagierenden Säuglingen muß die Reaktion wenigstens 3mal wiederholt werden.

9) Die Findelsäuglinge dürfen nicht an die Ammenbrust angelegt werden, bevor bei beiden die serologische Untersuchung ausgeführt worden ist; die negativ reagierenden Säuglinge müssen wenigstens 4–6 Monate unter sorgfältigster, täglicher, ärztlicher Beobachtung im Findelhause bleiben.

10) Die positiv reagierenden Säuglinge dürfen an die Brust positiv reagierender Ammen angelegt werden.

#### Literatur.

- Bab, Das Problem der Luesübertragung auf das Kind und latente Lues der Frau im Lichte der modernen Syphilisforschung. (Centralbl. f. Gynäkol. 1909. p. 527.)
- , Bakteriologie und Biologie der kongenitalen Syphilis. (Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. 60. 1907. p. 161.)
- Baisch, Die Vererbung der Syphilis auf Grund serologischer und bakteriologischer Untersuchungen. (Münch. med. Wochenschr. 1909. p. 1929.)
- , Der Einfluß der Syphilis auf die Fortpflanzung auf Grund serologischer Untersuchungen. (V. intern. Gynäkologenkongr.; ref. Centralbl. f. Gynäkol. 1909. No. 28.)
- Bar et Daunay, Compt. rend. d. Soc. Biol. T. 64. No. 22.)
- , La Clinique Infant. 1908. No. 13.
- Bauer, Das Collessche und Profetasche Gesetz im Lichte der modernen Serumforschung. (Wien. klin. Wochenschr. 1908. p. 1259.)
- Bergmann, J., Erfahrungen mit der Wassermannschen Reaktion. (Med. Klin. 1910. No. 38.)
- Bering, Fr., Ueber das Schicksal hereditär-syphilitischer Kinder (Lues hereditaria tarda?). (Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 106. p. 17.)
- Björkenheim, Syphilis-Serodiagnostik mit Rücksicht auf Lues congenita. (Prakt. Ergebn. d. Geburtsh. u. Gynäkol. Abt. I. Jahrg. III. 1911. p. 83.)
- Blaschko, Ueber die klinische Verwertung der Wassermannschen Reaktion. (Dtsche med. Wochenschr. 1909. p. 383.)
- , Betrachtungen über die individuelle Prognostik bei Syphilis. (Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 113. p. 143.)
- Boas, H., Die Wassermannsche Reaktion bei „aktiven“ und „inaktiven“ Sera. (Berl. klin. Wochenschr. 1909. No. 9.)
- Bondi, Die syphilitischen Veränderungen in der Nabelschnur. (Arch. f. Gynäkol. Bd. 69.)
- Engelmann, Ein Beitrag zur Serodiagnostik der Lues in der Geburtshilfe. (Centralbl. f. Gynäkol. 1909. p. 85.)
- Gräfenberg, Der Einfluß der Syphilis auf die Nachkommenschaft. (Arch. f. Gynäkol. Bd. 87. 1909. p. 190.)
- Grouven, Ueber den Nachweis der *Spirochaeta pallida* bei kongenitaler Syphilis. (Centralbl. f. Gynäkol. 1908. No. 18.)
- Halberstaedter, Müller u. Reiche, Ueber Komplementbindung bei Syphilis hereditaria, Scharlach und anderen Infektionskrankheiten. (Berlin. klin. Wochenschr. 1908. p. 1917.)
- Hübschmann, *Spirochaeta pallida* und Organerkrankung bei Syphilis congenita. (Berlin. klin. Wochenschr. 1906. No. 24.)



- Knöpfelmacher u. Lehdorf, Komplementablenkung bei Müttern hereditär-luetischer Säuglinge. (Wien. med. Wochenschr. 1908. No. 12.)
- —, Komplementfixation bei Müttern hereditär-syphilitischer Säuglinge. (Med. Klin. 1908. p. 1182.)
- —, Das Collessche Gesetz und neue Syphilisforschung. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 71. 1910. p. 156.)
- Krefting, Sur l'hérédité de la syphilis. (Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 110. 1911. p. 439.)
- Ledermann, Die Serumreaktion bei Syphilis in der Säuglingspraxis. (Zeitschr. f. ärztl. Fortbild. 1912. p. 147.)
- —, Die Serodagnostik der Syphilis in der Pädiatrie. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. 106. 1911. p. 325.)
- Leroux et Labbé, Die Serodagnostik bei der kongenitalen kindlichen und familiären Syphilis. (Arch. de méd. des enf. T. 14. 1911. p. 881; ref. Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 75. p. 515.)
- Matzenauer, Die Vererbung der Syphilis. Wien u. Leipzig 1903.
- Mohn, Die Veränderungen von Placenta, Nabelschnur und Eihäuten etc. (Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. 59.)
- Mulzer, Das Vererbungsproblem bei der Syphilis im Lichte moderner Forschung. (Arch. f. Dermatol. Bd. 113. 1912. p. 769.)
- u. Michaelis, Hereditäre Lues und Wassermannsche Reaktion. (Berlin. klin. Wochenschr. 1910. p. 1402.)
- Opitz, Ueber die Bedeutung der Wassermannschen Luesreaktion für die Geburtshilfe. (Med. Klin. 1908. p. 1137.)
- Pillon, Die Wassermannsche Reaktion beim Neugeborenen. (Lyon méd. T. 117. 1911. p. 112; ref. Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 75. 1912. p. 646.)
- Sachs u. Altmann, Komplementbindung. (Kolle u. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorgan. Ergänzungsbd. 2. 1909. p. 40.)
- Serra e Gentili, Reazione di Wassermann nel sangue del cordone ombelicale, nel sangue materno e nel sangue fetale dopo la nascita. (Ann. di ostetr. e ginecol. Vol. 33. 1911. p. 449.)
- —, Reazione di Wassermann nel sangue del cordone ombelicale, nel sangue materno e nel sangue fetale dopo la nascita. (Pathologica. Vol. 3. 1911. p. 383.)
- Thomsen u. Boas, Die Wassermannsche Reaktion bei kongenitaler Syphilis. (Berlin. klin. Wochenschr. 1909. p. 539.)
- —, Die Wassermannsche Reaktion bei angeborener Syphilis. (Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 111. 1912. p. 91.)
- Trinchese, Bakteriologische und histologische Untersuchung bei kongenitaler Lues. (München. med. Wochenschr. 1910. p. 570.)
- Uhlenhuth u. Mulzer, Gelungene Verimpfung von Blut, Blutserum und Sperma syphilitischer Menschen in die Hoden von Kaninchen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1912. p. 152.)
- —, Weitere Mitteilungen über die Infektiosität des Blutes und anderer Körperflüssigkeiten syphilitischer Menschen für das Kaninchen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1913. p. 769.)
- —, Ueber die Infektiosität von Milch syphilitischer Frauen. (Dtsche med. Wochenschr. 1913. p. 879.)
- Wechselmann, Postkonzeptionelle Syphilis und Wassermannsche Reaktion. (Dtsche med. Wochenschr. 1909. p. 665.)

*Nachdruck verboten.*

## Schistosomiasis japonica.

Von Prof. Dr. F. Katsurada in Okayama, Japan.

Hierzu 2 Tafeln und 2 Figuren im Text.

Fast 10 Jahre sind schon verflossen, seitdem ich 1904 das *Schistosomum japonicum* entdeckt und die erste Mitteilung darüber veröffentlicht habe. Seither wurde dieser Parasit von verschiedenen Seiten studiert und unsere Kenntnis über denselben bedeutend erweitert. Eine hohe Ehre war es für mich, daß ich im Auftrage des 1913 in London tagenden internationalen Kongreß einen Vortrag über die *Schistosomiasis japonica* halten durfte. Leider ist es aber fast unmöglich, über alle wichtigen Tatsachen im Gebiete dieses Themas, über welches viel neu gearbeitet wurde, in den Verhandlungen des Kongresses zu berichten. Deshalb glaube ich, daß den europäischen Fachmännern eine ausführliche Mitteilung in deutscher Sprache nicht unwillkommen sein wird.

### I. Geschichtliche Betrachtungen.

Seit Jahren beobachtet man in gewissen Gegenden der Provinzen Yamanashi, Hiroshima, Okayama und Saga eine endemische Krankheit, die sich durch folgende Hauptsymptome auszeichnet: Vergrößerung der Leber (mit nachfolgender Schrumpfung) und der Milz, chronische Diarrhöen (häufig schleimig-blutige Entleerungen), Anämie, Kachexie, Ascites und Oedem, zuweilen auch im früheren Stadium Fieber etc. Eine gewisse Anzahl der Patienten geht schließlich an Schwäche zugrunde, und bei einer anderen Anzahl derselben beobachtet man ein Zurückbleiben in der Körperentwicklung.

Ueber das Wesen und die Ursache dieser Krankheit mußte man lange kaum Sicheres, obwohl schon von Yamagiwa (1), Kurimoto (2), Fujinami (3) u. a. Fälle beobachtet worden waren, bei welchen sich in verschiedenen Organen (besonders in der Leber) der aus den infizierten Gegenden stammenden Leichen zahlreiche Eier einer damals noch unbekannten Art von Parasiten vorfanden, nachdem schon 1887 Majima (4) das Vorkommen der gleichen Art Eier in der Leber einer dem Wohnort nach unbekannten Leiche nachgewiesen hatte.

Zum ersten Male wies Kasai (5) im Kote der Patienten in den infizierten Gegenden der Provinz Hiroshima die Existenz der eigenartigen Eier nach, und behauptete, daß die endemische Krankheit durch diese Eier und deren Muttertiere hervorgerufen würde.

Ich hatte Gelegenheit, im April 1904 in der Provinz Yamanashi die Krankheit von verschiedenen Seiten studieren zu können. Im Kote von 5 von mir untersuchten 12 Patienten wies ich auch das Vorhandensein der eigenartigen Eier nach, welche den Eiern des *Schistosomum haematobium* ähnlich waren; daher vermutete ich, daß deren Muttertiere wahrscheinlich im Pfortadersystem vorhanden seien. Da ich schon vorher konstatiert hatte, daß sich die parasitischen Trematoden des Menschen in Japan auch nicht selten bei Hunden und Katzen vorfinden, so glaubte ich, daß man bei diesen Tieren einen Trematoden der unsere Krankheit verursacht, auffinden könnte. Deswegen sezierte ich dort Hunde und Katzen, und bei der letzteren habe ich in der Pfortader, sowie auch in deren Zuflüssen zahlreiche, getrennt geschlechtliche Trematoden gefunden. Ich gab diesem Parasiten den Namen „*Schistosomum japonicum*“ (6). In meiner ersten Mitteilung wies ich schon darauf hin, daß die Eier dieses Parasiten mit den Eiern, die wir im Kote unseres Kranken nachgewiesen, und die wir auch schon in den Geweben des Menschen und der Tiere angetroffen, von ganz gleicher Art seien, und daß deshalb dieser Parasit der Erreger unserer Krankheit sein müsse.

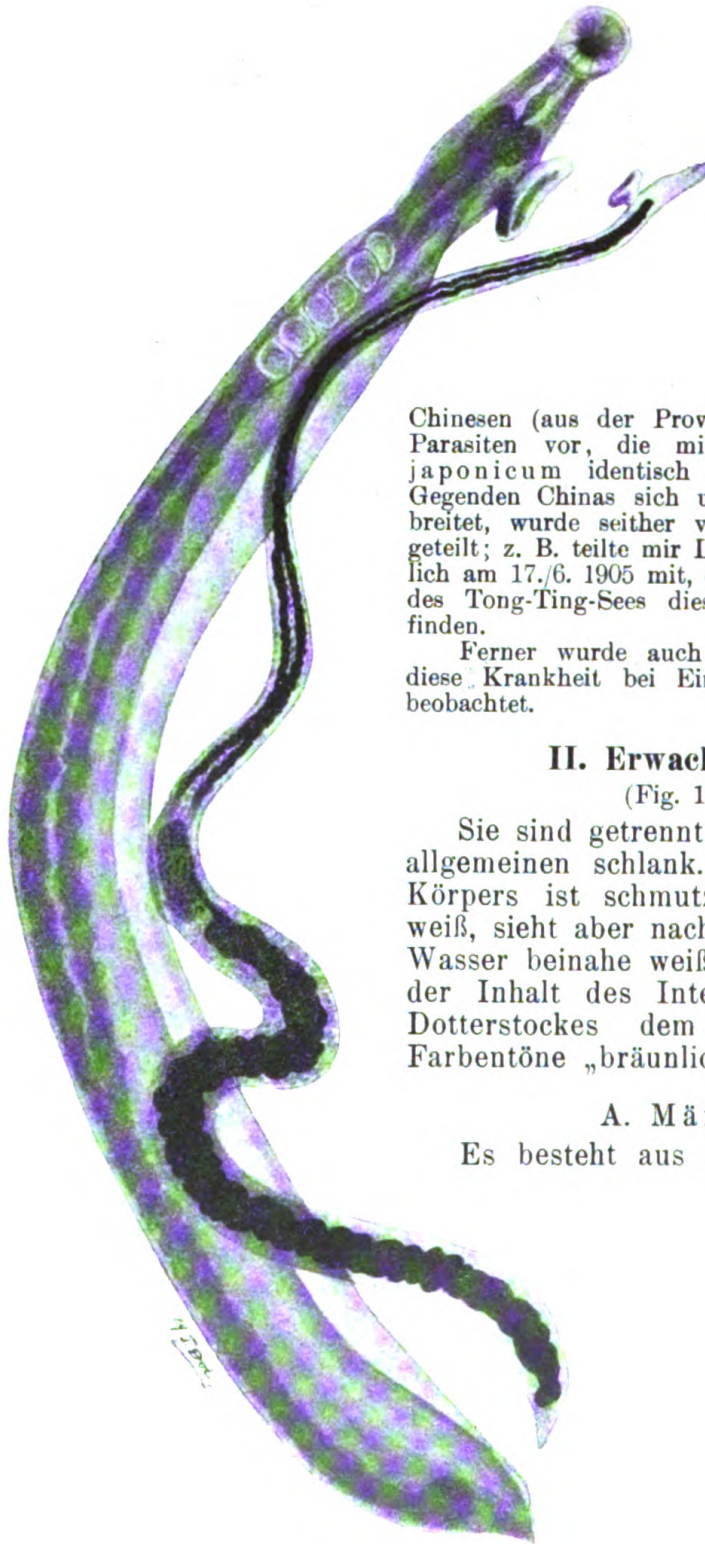


Fig. 1.

Wenig später fand Fujinami (7) im Pfortadergebiete einer menschlichen Leiche ein Exemplar des Weibchens dieses Parasiten vor, und Tsuchiya (8) beobachtete zahlreiche Exemplare desselben sowohl beim Menschen als auch bei Tieren.

Außerhalb Japans fand Catto (9) in Singapore erst 1905 bei der Sektion eines an Cholera gestorbenen Chinesen (aus der Provinz Fukien) eigentümliche Parasiten vor, die mit dem *Schistosomum japonicum* identisch sind. Daß in gewissen Gegenden Chinas sich unsere Schistosomiasis verbreitet, wurde seither von dortigen Autoren mitgeteilt; z. B. teilte mir Longan in Hunan persönlich am 17./6. 1905 mit, daß sich in der Umgebung des Tong-Ting-Sees diese Patienten nicht selten finden.

Ferner wurde auch von Woolley (10) u. a. diese Krankheit bei Eingeborenen der Philippinen beobachtet.

## II. Erwachsene Tiere.

(Fig. 1 und 3.)

Sie sind getrennt geschlechtlich und im allgemeinen schlank. Der größte Teil des Körpers ist schmutzig-weiß oder rötlich-weiß, sieht aber nach dem Auswaschen mit Wasser beinahe weiß aus. Außerdem gibt der Inhalt des Intestinalkanals und des Dotterstockes dem Tiere verschiedene Farbtöne „bräunlich bis fast schwarz“.

### A. Männchen.

Es besteht aus einem kurzen, dünnen Vorderkörper und einem langen und breiten Hinterleib. Die Seitenränder des letzteren rollen sich bauchwärts ein und bilden den Canalis gynaecophorus. Am Vorderende des Körpers findet sich ein trichterförmiger Mundsaugnapf und am hintersten Teile

des Vorderkörpers auf der Ventralseite ein gestielter Saugnapf, der etwas größer als der Mundsaugnapf ist. Diese gut entwickelten, großen Saug-

näpfe sind auch als ein Unterscheidungsmerkmal gegen die Bilharzien zu verwerten.

Es ist auch bemerkenswert, daß die Körperoberfläche der Tiere im allgemeinen glatt ist. Untersucht man sie jedoch im frischen Zustande, so findet man nur in einem beschränkten Gebiet der Rückenfläche (in der Nähe des Körperrandes) zahlreiche, relativ deutliche Stacheln. Auf der ganzen Bauchfläche im *Canalis gynaecophorus*, sowie auf den beiden Saugnapfen stehen dichte, feine Stacheln.

Die Größe der Tiere hängt von mancherlei Umständen ab, z. B. von ihren Entwicklungsstadien, von ihrer Individualität, von der Art des Wirtes und von sonstigen Verhältnissen. Nach unserer Beobachtung kann ein kleines Tierchen, dessen Körperlänge noch nicht ganz 5 mm beträgt, schon reif sein. Die gewöhnliche Größe der erwachsenen Tiere ist jedoch, wie folgt:

Tabelle über Körperlänge des *Schistosomum japonicum* (Tabelle I).

Autoren	Katsurada (1904)		Tsuchiya (1906)		Fujinami (1907)		Katsurada (1909)		Katsurada (1911)		Katsurada (1913)	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Durchschnittl. Körperlänge (mm)	10,43		16,1	21,8	16,0	17,8	10,92	14,5	8,0	11,0	12,8	10,6
Größter Längendurchmesser (mm)	12,0	12,0	19,5	26,0	21,0	23,0	13,0	17,0			15,0	12,0
Kleinster Längendurchmesser (mm)	7,0	8,0	9,5	16,0	8,0	12,0	9,0	11,0			11,0	8,5
Zahl der Würmer	8		19	8			13	4			5	5
Zustand der Würmer	Formalinfixation		Frisch (aber 24 Std. n. d. Tod des Wirtes)				Formalinfixation		Frisch		Spiritusfixation	
Wirt	Katze		Mensch		Rind		Hund, gestorben 82 Tage n. d. Ansteckungsversuch		Maus, getötet 62 Tage n. d. Ansteckungsversuch		Hund, getötet 10 Monate n. d. Ansteckungsversuch	

Die in der obenstehenden Tabelle I angegebenen Maße geben die gewöhnliche Größe des *Schistosomum japonicum* bei den verschiedenen Wirten an; die Körperlänge der Mehrzahl der Würmer beträgt also 8—19 mm. Wenn aber die Würmer unter günstigen Verhältnissen gut entwickelt sind, so mißt man noch viel größeren Körperdurchmesser, wie aus Tabelle II ersichtlich ist.

Aus dieser Tabelle kann man leicht ersehen, daß unsere Schistosomen ein etwas größeres Wachstum (die Körperlänge des größten Männchens: 22,5 mm, dieselbe des größten Weibchens: 26,0 mm) zeigen können als ägyptische Bilharzien.

Struktur der Tiere. Die äußerste Schicht des Körpers bildet die relativ gut entwickelte Cuticula, die meist homogenisiert, aber zuweilen streifig aussieht. Unter diesem Häutchen liegt der bedeutende Hautmuskelschlauch, welcher aus ringförmigen, längs- und schiefverlaufenden Muskelfasern besteht. Außerdem trifft man den Körper vom Rücken bis zum Bauch durchsetzende Parenchymmuskeln an. Ferner wurden



Tabelle II.

Besonders gut entwickelte *Schistosoma japonica*. Beispiel von 21 Monate alten Würmern. — Wirt: männlicher Hund (Körpergewicht ungefähr 11 kg) — frischer Zustand.

	Geschlecht	No.	Längendurchmesser	Breitendurchmesser		Mundsaugnapfdurchmesser (mm)	Bauchsaugnapfdurchmesser (mm)	
			(mm)	(mm)		Querdurchmesser	Querdurchmesser	Längendurchmesser
Unpaarige Schistosomen	♂	1 (dickster)	21,0	1,5		0,604	0,604	0,604
		2	20,0	1,2		0,513	0,581	0,467
		3	22,5	1,0		0,513	0,627	0,593
		4 (dünnster)	12,0	0,7		0,513	0,570	0,534
	♀			Vorderkörper	Hinterkörper			
		1 (längste)	26,0	0,125	.	.	.	0,114
		2						
		(kürzeste)	18,0	0,137	0,445	.	.	0,091
Paarige Schistosomen	I. Paar	♂	19,5	0,627	0,8	0,456	0,536	0,570
		+	23,0	0,103	0,422	.	.	0,114
	II. Paar	♂	19,5	0,570	0,8	0,502	0,559	0,570
		+	21,0	0,103	0,513	.	.	0,103
	III. Paar	♂	19,0	0,513	0,8	0,456	0,522	0,513
		+	23,0	0,137	0,456	.	.	0,091

in den Saugnäpfen und beschränkten Organen besonders mehr oder weniger reichliche Muskelfasern beobachtet. Alle diese Muskelfasern sind beim Männchen viel stärker entwickelt als beim Weibchen. Reichlicher Glykogenegehalt in den Parenchymzellen wurde zuerst von mir nachgewiesen.

Unter den Organen ist der Verdauungstraktus verhältnismäßig gut entwickelt. Dieser beginnt mit der Mundöffnung im Mundsaugnapf und setzt sich gleich in den Oesophagus fort, der zwei spindelförmige Aufreibungen aufweist. Um den Oesophagus herum sind mehrere Drüsenzellen zu konstatieren. Das hintere Ende des Oesophagus spaltet sich direkt vor dem Bauchsaugnapf rechtwinklig in zwei Darmschlingen, die sich schlängelnd nach hinten verlaufen und beinahe am hinteren Ende des Körpers blind enden, nachdem sie vorher wieder verschmolzen sind. Die Vereinigungsstelle ist je nach dem Wurm mehr oder weniger verschieden; aber man kann sagen, daß die Vereinigung der Darmschlingen bei unserem Parasiten im allgemeinen viel weiter hinten geschieht als bei *Schistosomum haematobium*. Der vereinigte mediane Darmschenkel unseres Parasiten nimmt bloß das hintere  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$  (sogar zuweilen  $\frac{1}{6}$ ) der ganzen Körperlänge ein. Ab und zu verzweigen sich die einmal vereinigten Darmschlingen wieder. Ferner verlaufen die Darmschlingen da und dort in wellen- und zickzackförmigen leichten Biegungen. Die Struktur der Darmwand ist einfach und mit einreihigen Epithelien überzogen. Außer den braunen bis bräunlich-schwarzen, vom Blutpigment herstammenden Contenta finden sich als Formbestandteile relativ

zahlreiche polynukleäre Leukocyten, die manchmal in reichlicher Menge Glykogen enthalten.

Bezüglich des Exkretionsapparates hat das Tier je einen Längsstammkanal an beiden Seiten des Körpers, welche in der Nähe des Hinterendes verschmelzen und an der Dorsalseite nach außen münden.

Was die Geschlechtsapparate anbelangt, so liegen im vorderen, kleinen Bereiche des Hinterleibes zwischen beiden Darmschlingen 7 längs angeordnete, zusammenliegende, unregelmäßig elliptische Hoden, deren man öfters scheinbar 6 oder 8 zählt. Die einzelnen Ausführungsgänge aus jedem Hoden vereinigen sich in einem Gang und münden direkt hinter dem Bauchsaugnapf, nämlich am Beginn des Canalis gynaecophorus (Geschlechtsöffnung). Direkt hinter der Geschlechtsöffnung befindet sich eine, anscheinend der Samenblase entsprechende, Anschwellung.

Vom Nervenapparate trifft man hier und da Ganglien und an periphere Nerven erinnernde Elemente.

### B. Weibchen.

Der Körper des Weibchens ist fast zylindrisch, vorn und hinten zugespitzt; das bis jetzt beobachtete größte Tier ist 26.0 mm lang. Die größte Dicke des Leibes bleibt etwas hinter der Körpermitte zurück. Das Weibchen ist im allgemeinen dünner als das Männchen und sieht daher wie ein Faden aus. Trotzdem das Weibchen einen dünnen und fadenartigen Körper besitzt, entwickelt sich ein Darmkanal relativ stark und der letztere füllt sich manchmal mit Blutpigment, durch welches der Wurmkörper dunkel bis schwarz aussieht. Die Oberfläche erscheint glatt; nur in den Saugnapfen finden sich feine Stacheln. Mund- und Bauchsaugnapfe sind infolge der Dünne des Körpers viel kleiner als beim Männchen. Auch unserem Material nach ist der Bauchsaugnapf etwas größer als der Mundsaugnapf; so z. B. hat bei einem in Formalin fixierten und nachher in physiologischer Kochsalzlösung untersuchten 21 mm langen Weibchen der Mundsaugnapf 0,0875 mm und der Bauchsaugnapf 0,095 mm Querdurchmesser. Dieses Beispiel hat jedoch nicht als absolutes Muster zu gelten. Sogar Fujinami beobachtete zu jener Zeit bei den im Rindskörper parasitierenden Weibchen, daß ihre Mundsaugnapfe größer als ihre Bauchsaugnapfe waren.

Das Weibchen läßt durch den Bauchsaugnapf zwei Abschnitte erkennen, einen enorm kurzen Vorderkörper (Saugnapfabschnitt) und einen relativ langen Hinterabschnitt (Geschlechtsorganabschnitt). Oder man kann das Weibchen makroskopisch in einen dünneren, vor dem Ovarium gelegenen Vorderkörper und in einen relativ dickeren, nach dem Ovarium gelegenen Hinterkörper teilen.

Die Verhältnisse der glatten Muskelgewebe und der Parenchymzellen des Weibchenkörpers sind ungefähr denjenigen des Männchens gleich, nur besteht ein kleiner Unterschied darin, daß die Entwicklung der Muskelgewebe beim Weibchen nicht so stark wie beim Männchen ist.

Als Verdauungstractus findet man zuerst den Oesophagus, dann beginnen direkt vor dem Bauchsaugnapf beide Darmschenkel, die dicht hinter dem Ovarium (wenig hinter der Körpermitte) zu einem einfachen Rohr verschmelzen, und das letztere endet blind in der Nähe des hinteren Körperendes. Daß der verschmolzene Darmkanal eine bedeutende Dicke besitzt, ist auch als ein Unterscheidungsmerkmal gegen die ägyptische Bilharzia hervorzuheben. Die Exkretionsapparate sind im allgemeinen gleich denen des Männchens und gut entwickelt.

Die Entwicklung der Geschlechtsorgane ist besonders stark. Das Ovarium (Keimstock) ist längs wenig hinter der Körpermitte gelegen und oval oder lang-elliptisch (manchmal mit kolbiger Verdickung des Hinterendes). Die Größe des Ovariums ist je nach der Größe des Wurmkörpers verschieden; ein 21 mm langes, in Formalin fixiertes Exemplar (Wirt: Hund) besaß ein Ovarium, das 0,684 mm lang und 0,195 mm breit war; auch ein anderes kleineres Exemplar, welches von einer Maus entnommen war, besaß ein kleineres Ovarium, das 0,353 mm lang und 0,114 mm breit war. Mikroskopisch besteht das Ovarium aus rundlichen (oder mehr oder weniger polygonalen) Zellen, in welchen sich rundliche Kerne mit relativ großen, deutlich tingierbaren Kernkörperchen finden. Am Hinterende des Ovariums entspringt ein Keimleiter, welcher, sich schlängelnd, nach vorn verläuft und vor dem Ovarium sich in den Uterus fortsetzt. Der Dotterstock entwickelt sich mächtig und erstreckt sich von direkt hinter dem Ovarium beinahe bis zum Hinterende des Körpers. Der einfache Darmkanal wird von diesem Dotterstock umhüllt. Dieses Organ besteht aus zahlreichen Läppchen (Acini) und entleert das Sekret in den Keimleiter mittels eines Dotterganges, welcher dem einfachen Darmkanal entlang nach vorn verläuft und vor dem Keimstock sich mit dem Keimleiter vereinigt. Nach einer neueren Untersuchung Goldschmidts wird aus diesem Dotterstock auch die schalenbildende Substanz sezerniert.

An der Vereinigungsstelle des Keimleiters mit dem Dottergang münden die Schalendrüsenzellen ein; der gemeinsame Kanal erweitert sich zum Ootyp und zieht dann als Uterus, im Mittelfeld nur schwache Windungen beschreibend, zwischen beiden Darmschenkeln zum Genitalporus, der unmittelbar hinter dem Bauchnapf median liegt. Das Lumen des Uterus ist spaltförmig und sein Durchmesser von rechts nach links ist bedeutend kleiner als der von der Bauchseite bis zur Rückenseite. Die Uteruswand besteht fast bloß aus glatten Muskelfasern und ist ohne Epithelialbedeckung. Daß bei unserem Schistosomum der Uterus sich in die vordere Hälfte des Körpers hineinerstreckt und der Dotterstock nicht die ganze hintere Hälfte des Körpers an Länge erreicht, wie ich oben schon erwähnt habe, wurde auch als ein differenzierendes Merkmal gegen die ägyptische Bilharzia betrachtet.

Im Uterus finden sich mehr oder weniger zahlreiche Eier, deren Anzahl aber je nach den Umständen schwankt; einige Beispiele seien in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle III.

Zahl der Eier im Uterus von <i>Schistosomum japonicum</i>			
Wirt	Zahl der Eier		Alter der Würmer
Hund I	No. 1	56	83 Tage
	" 2	107	83 "
	" 3	128	83 "
Katze	No. 1	127	43 Tage
Hund II	No. 1	323	21 Monate
Rind (nach Fujinami)	No. 1	65	
	" 2	95	
	" 3	146	
	" 4	168	

Ferner findet man natürlich im Anfangsteil des Uterus noch mehr oder weniger Primitiveier und Samentierchen.

In den sonstigen Verhältnissen ist das Weibchen fast gleich wie das Männchen gebaut.

Die innere Organisation bei beiden Geschlechtern ist also der der bekannten ägyptischen Bilharzien sehr ähnlich; es gibt jedoch einige abweichende Punkte, die ich hier wieder anführe:

1) Die Vereinigung der Darmschenkel bei unserem Parasiten geschieht im allgemeinen bedeutend weiter hinten als bei *Schistosomum haematobium*. Daß die verschmolzenen Darmschlingen am hinteren Abschnitte des Weibchens eine bedeutende Dicke besitzen, ist auch als ein Unterscheidungsmerkmal gegen *Schistosomum haematobium* hervorzuheben.

2) Da bei unseren Schistosomen der Keimstock fast in der Mitte des Körpers längs gelegen ist und deswegen der Uterus sich in die vordere Hälfte des hinteren Körpers hineinerstreckt und der Dotterstock gewöhnlich nicht die ganze Hälfte des Körpers an Länge erreicht, wurde als differenzierendes Merkmal gegen die ägyptische Bilharzia betrachtet.

3) Ein wesentlicher Unterschied liegt in den Eiern; unsere sind ohne Endstachel.

### III. Eier.

(Fig. 4, 5, 6, 7, 8.)

Die Eier sind nach ihren Entwicklungsgraden in ihren Eigenschaften nicht nur dem Inhalte nach, sondern auch der Eischale nach mehr oder weniger verschieden.

Die Eier im Uterus des Muttertieres können infolge der weichen und elastischen Eischale und der relativen Enge des Uterus verschiedene Formen annehmen. Wenn man sie aus dem Uterus herausgedrückt hat, sind sie oval oder elliptisch. In diesem Stadium ist die Eischale dünn und schwach gelblich gefärbt und zeigt Doppelkontur. Als Inhalt lassen die Eier gewöhnlich eine Eizelle, mehrere Dotterzellen und eine zwischen ihnen lagernde klare, halb dickflüssige Substanz erkennen. Im Uterus entwickeln sich die Eier niemals zu Miracidien.

Wenn die Eier in der Darmwand des Wirtes abgesetzt werden, so geht, wenigstens eine gewisse Anzahl derselben, durch Zerstörung der Darmwand in den Intestinalkanal über. Im Kote des Wirtes trifft man Eier von verschiedenen Entwicklungsstadien an, vom gekörnten bis zum ausgereiften Zustande. Doch befinden sich im Kote der Patienten relativ zahlreiche ausgebildete Eier.

Die ausgebildeten Eier (Miracidium enthaltend) im Kote sind oval oder elliptisch und die Schale ist dünn, doppelt konturiert und gelblich oder bräunlich-leichtgelb gefärbt. Was die Größe der Eier im Kote betrifft, so beträgt sie nach meiner ersten Mitteilung beim Menschen durchschnittlich (10 Eier) 0,0835:0,0625 mm, nach Fujinami beim Rinde durchschnittlich 0,0850:0,0615 mm, auch eigener Beobachtung nach bei einem experimentell infizierten Hunde (76 Tage nach der Infektion) durchschnittlich (30 Eier) 0,0982:0,0738 mm.

Neuerdings hat Leiper (11) (auch ein japanischer Forscher Nakayama) über das Vorhandensein einer Art Stacheln (spine) bei den Eiern unserer Schistosomen geschrieben. Looss (12) hat außer



dieser Spine an der derselben entgegengesetzten Seite eine hutförmige Anschwellung (calotte) beobachtet. Obgleich ich früher die Befunde von Leiper und Looss angezweifelt habe, muß ich sie nach meinen neueren Beobachtungen mit einer Modifikation zugeben. Ich beobachtete nämlich entweder Seitenstacheln oder an deren Stelle eine Verdickung der Schalensubstanz. Ferner haben die Eier unserer Schistosomen auch kein Deckelchen. Das Meracidium der gereiften Eier ist länglich oval gestaltet; an seinem Vorderende bildet sich ein rüsselförmiger Fortsatz. Von den den ganzen Körper des Meracidiums bedeckenden Flimmern sind die am Vorderkörper länger und dichter, und die am Hinterkörper kürzer und spärlicher entwickelt. Um das Meracidium befindet sich eine dünne, es umhüllende Schalenhaut. Genauer über die Struktur des Meracidiums sehe man in meiner früheren Mitteilung (Verhandl. d. jap. patholog. Gesellsch., I. Tagung, 1911).

Die oben erwähnten Eigenschaften der Eier beziehen sich auf den von außen nicht beeinflussten Zustand.

Bleiben die Eier dagegen im Gewebe stecken, so werden sie meist verschiedenartigen Veränderungen unterworfen, nämlich Formveränderung (relativ häufig unregelmäßig-spindelig), Zerbröckelung der Schale usw.; bezüglich des Inhalts findet man schon nicht selten ausgebildete Miracidien oder auch mehrere kernhaltige Zellen, wo jedenfalls in der Furchung sich treffende Eierzellen sein müssen. Als Folge der Veränderung dieses Inhaltes befindet sich manchmal in der Schale eine nicht färbbare, körnige Masse oder auch amorphe Körner, es tritt sogar bisweilen Verkalkung der Eier ein. Ferner trifft man Eischalen an, in welchen sich kein Inhalt oder sogar Lymphocyten finden. Außerdem können Fremdkörperriesenzellen um und in der Eischale entstehen.

Kurz, die Eier des *Schistosomum japonicum* sind im Gewebe leicht zu diagnostizieren, wenn sie charakteristische Miracidien beherbergen, welche jedoch bei veralteten Fällen nicht immer erkennbar sind. Wenn man aber auf die höchst dünne und zarte Beschaffenheit und das Fehlen des Deckelchens der großen Schale achtet, so fällt die Diagnosestellung nicht immer schwer, wenn auch der Inhalt mehr oder weniger stark alteriert ist.

#### IV. Entwicklung.

1) Begattung. Die Tiere sind meist gepaart, nur sehr selten unpaarig. In vielen Fällen liegt vom Weibchen der größte Teil des Hinterkörpers im *Canalis gynaecophorus* des Männchens und macht oft mehrfache Windungen. Selten wird ein kleiner Teil des Hinterkörpers oder des Vorderkörpers vom Männchen umfaßt, während der übrige größte Teil frei davon ist.

2) Ablegung der Eier. Wie lange Zeit die Tiere brauchen, bis sie Eier ablegen, nachdem sie in den Wirt eingedrungen sind, beantwortet sich nach unseren bisherigen Untersuchungen folgendermaßen: die Geschlechtsorgane entwickeln sich erst nach 2 Wochen, und nach 3 Wochen beginnen die Tiere, Eier abzulegen. Z. B. konnte ich bei einem 17 Tage nach dem Eintauchen in infiziertes Grabenwasser gestorbenen Kätzchen zahlreiche Schistosomen in der Pfortader finden, deren Geschlechtsapparate schon gut entwickelt waren, wobei aber noch keine Eier im Uterus nachweisbar waren. Ein anderes Tier (Hündchen) entleerte 24 Tage nach dem Eintauchen in infiziertes Grabenwasser mit Kot eigentümliche Eier, welche noch keine Miracidien enthielten. Das

letztere Tier starb nach beinahe einem Monate an Schwäche; man konnte in seinem Pfortadersystem zahlreiche paarige, gewachsene Parasiten finden.

Das einmal in infiziertes Grabenwasser getauchte Versuchstier entleert am stärksten in 4—10 Wochen schleimig-blutigen Kot; der zahlreiche Parasiteneier enthält, und findet oft in diesen Stadien seinen Tod. Nach dieser Zeit erholt sich nicht selten das überlebende Tier allmählich.

3) Bildung der Eier. Die von Ovarien in den Geschlechts-traktus gekommenen Eizellen vereinigen sich hauptsächlich im Ootyp mit den Samenfäden und werden in den Uterus vorgeschoben, nachdem sie durch Hinzukommen von Eidotter und Schalensubstanz in die fertigen Eier umgewandelt worden sind, die im Uterus niemals zum Miracidium auswachsen.

4) Ausbildung des Miracidium. Die Ausbildung von Eiern findet außerhalb des Körpers der Muttertiere statt, wie z. B. bei *Paragonimus westermani*, und zwar geschieht dies leicht und in kurzer Zeit. Deswegen finden sich nicht selten die Miracidium enthaltenden Eier in den Geweben sowie auch im Kote des Wirtes.

5) Nachherige Entwicklung. Ueber das Schicksal der in den entleerten Eiern eingeschlossenen Miracidien veröffentlichten wir schon 1909 als Ergebnis der genauen Beobachtung etwa folgendes:

Werden in einer größeren Menge Leitungswassers schistosomeneierhaltige Exkremente verdünnt und der Zimmertemperatur, die bei uns in Japan im Sommer gegen 30° beträgt, ausgesetzt, so blähen sich die meisten Eischalen nach kurzer Zeit auf (bersten gewöhnlich der Länge nach), lassen die Miracidien aus ihren Hüllmembranen austreten und die Miracidien schwimmen dann mit Hilfe ihrer dichten Wimpern sehr munter umher. Nach unserer Beobachtung schlüpfen die Miracidien im Wasser am frühesten schon nach 15 Minuten aus, die Mehrzahl jedoch innerhalb 1—3 Stunden. Es kann aber der Fall eintreten, daß die Miracidien nach 24 Stunden immer noch in den Eischalen, sich bewegend verbleiben. Die Lebensdauer des freischwimmenden Miracidiums beträgt für gewöhnlich nicht über 24 Stunden, mindestens sind bis jetzt alle Versuche, es länger als 48 Stunden am Leben zu erhalten, gescheitert. Es ist aber höchst wahrscheinlich, daß die Miracidien unter natürlichen Verhältnissen im infizierten Grabenwasser noch mehr oder weniger länger das Leben fortsetzen können. Ferner sind die freigewordenen Miracidien im hohen Masse befähigt, gewisse, ihnen in den Weg kommende Gegenstände zu durchbohren. Die oben zitierten Beobachtungen müssen wir heutzutage noch aufrecht halten.

Nun ist die nächste Frage, welche morphologische Veränderungen die im Wasser frei gewordenen Miracidien nachher erleiden, bis sie in den menschlichen oder tierischen Organismus eindringen; ob sie als Notwendigkeit irgendeinen Wirt brauchen, oder nicht. Nach den bisherigen verschiedenen Untersuchungen konnten wir keinen sicheren Beweis erbringen, daß für die weitere Entwicklung der im Wasser frei gewordenen Miracidien irgendein Zwischenwirt unentbehrlich ist, und jetzt bin ich folgender Meinung: Die aus den Eischalen ausgeschlüpfen Miracidien machen eine relativ einfache Metamorphose durch, wodurch sie sich zu den Larven entwickeln, die im Wasser herumschwimmen und durch Einbohrung in die äußere Haut in den Körper des Wirtes gelangen können.

Ueber die Möglichkeit der Hautinfektion der ägyptischen Bilharzien sprachen sich schon früher Kartulis und Looss aus, und ich behauptete von unseren Schistosomen seit langem, daß das Eindringen der Miracidien durch die Haut stattfindet. Erst 1909 wurde die obengenannte Behauptung durch experimentelle Versuche als ganz sicher erwiesen. Als Versuchstiere brauchte ich Katze und Hund, Fujinami Rinder und Matsuura sich selbst. Im nächsten Jahre erzielte Tsuchiya wieder infolge umfangreicher Experimente das ganz gleiche Resultat wie wir.

Wie und in welcher Form die Larven die Haut des Wirtes durchbohren, wußte man bis zu jener Zeit kaum sicher, bis es 1911 Matsuura und Yamamoto gelang, die mit kurzen Flimmerhaaren bedeckte Larve (0,075 mm oder 0,060 mm lang: 0,033 mm breit) in der äußeren Haut der experimentell infizierten Tiere und auch im Grabenwasser nachzuweisen. Fast gleichzeitig machte Miyagawa Mitteilung über das Auffinden einer gleichen Larve, welche er in den Vv. femoralis und saphena bei experimentell infizierten Hunden antraf. Die Larven waren länglich-oval und meist 0,040 mm lang und 0,015 mm breit. Miyagawa konnte dieselben Würmchen sogar wieder im Hautgewebe der Versuchstiere nachweisen.

Auf welchem Wege die relativ fest gebauten, geflimmerten Larven von der Haut in die Pfortader des Wirtes gelangen, und was für eine Metamorphose sie dabei durchmachen müssen, um reif zu werden, wissen wir noch nicht sicher. Miyagawa (13) glaubt jedoch, daß die jüngsten Würmer, welche in Gewebslücken der Haut

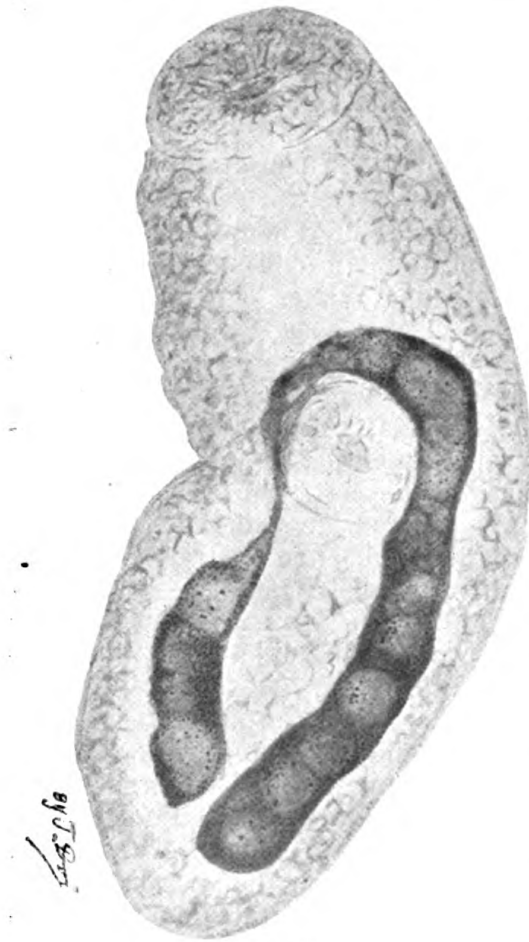


Fig. 2.

des Wirtes eindringen, zunächst in Blutkapillaren und dann weiter durch die größeren Venen bis zum Herzen befördert werden, um von hier aus in den großen Kreislauf und zuletzt in das Pfortadersystem zu gelangen. Ueber diese Behauptung gehen aber die Meinungen der Autoren auseinander, obwohl wir die jüngsten Würmer nicht selten im Venenblut des großen Kreislaufes und, wenn auch sehr selten, im Arterienblut desselben auffinden. Meiner Ansicht nach kann es auch möglich sein, daß die jüngsten Würmer von der Vena cava inferior aus durch Vermittlung der Vena hepatica direkt in das Pfortadersystem gelangen.

Wir fanden bei einer Katze 7 Tage nach Eintauchen derselben in infiziertes Grabenwasser zahlreiche, relativ gut entwickelte, kurzspindelförmig gestaltete Schistosomen (Fig. 2); von denen das größte 0,438 mm

lang und 0,12 mm breit war. Fujinami beobachtete auch schon 3 Tage nach dem Eintauchen im Pfortaderblut eines Kaninchens einen kleinen Wurm (0,15 mm lang; 0,037 mm breit).

Es ist höchst wahrscheinlich, daß die Larven nach dem Eindringen schon in qualitativer Beziehung dem ausgewachsenen Tiere fast gleich und bloß quantitativ davon verschieden sind.

Die Infektionszeit kann sich vom Frühling bis zum Herbst erstrecken; ja wir fanden dieses Jahr bei einer am 22./3. in infiziertes Grabenwasser eingetauchten Maus am 8./5. schon in der Pfortader erwachsene Schistosomen auf. Meiner bisherigen Beobachtung nach ist die Infektionsfähigkeit am stärksten vom Mai bis Juli. Aus welchem Grunde diese Zeit die stärkste Infektionsfähigkeit besitzt, erklärt folgende Tatsache: Unsere Reisfelder in Schistosomengegenden werden nämlich zu Jahresbeginn gewöhnlich mit Weizen bebaut und in dieser Zeit (insbesondere im Juni) werden, jedoch nach der Weizenernte, die Felder durch Gräben unter Wasser gesetzt und dann mit Reis bepflanzt. Das Weizenfeld wird häufig mit Exkrementen gedüngt, die hin und wieder schistosomeneierhaltig sind, während der Dünger für das Reisfeld davon frei ist. Da dieses neuangebaute Reisfeld und die mit demselben in Verbindung stehenden Gräben am gefährlichsten sind, so findet man die Schistosomiasis japonica hauptsächlich bei Leuten, die dort arbeiten. Ferner erkrankten sehr häufig auch Kinder, die in den größeren Kanälen und Flüssen der versuchten Gegenden zur Sommerszeit umherschwimmen.

### V. Biologische Eigenschaften.

Unsere erwachsenen Schistosomen wählen als Wirt den Menschen und Säugetiere. Die natürliche Invasion wurde beim Rind, Hund und der Katze häufig nachgewiesen. Experimentell kann diese Krankheit fast alle Säugetiere ergreifen; wir wiesen nach, daß die Maus auch sehr leicht infizierbar ist. Die Angaben über Geflügel sind geteilt, obschon unsere Versuche mit Hühnern negative Resultate zeigten.

Japanische Schistosomen wohnen gewöhnlich in der Pfortader und deren Zuflüssen, vor allem aber in den Mesenterialvenen. Fujinami fand in den Hohlvenen und der rechten Herzkammer einer Katze relativ zahlreiche männliche Parasiten; dort konnte wahrscheinlich ein vorübergehender Wohnort sein. Bei den lebendigen Wirten schwimmen die Parasiten im Blut umher oder bleiben lieber, besonders die Männchen, mit ihren Bauchsaugnäpfen an der Intima der Gefäße fest haften.

Es ist sehr bemerkenswert, daß unser Schistosomum bis jetzt niemals im Venenplexus der Harnblase sowie der sonstigen Harnwege gefunden worden ist und daß deshalb niemals ein durch diesen Parasiten hervorgerufenen Leiden der ebengenannten Organe beobachtet worden ist, wie es das Schistosomum haematobium fast immer nach sich zieht.

Die abgelegten Eier gelangen embolisch in die verschiedenen Organe, ausnahmslos aber in die Leber in der Richtung des Pfortaderstroms. Gleichzeitig kommen die Eier auch immer in der Submucosa und Mucosa des Darmes, vornehmlich des Dickdarmes vor. Wird die Mucosa zerstört, so können die Eier in die Außenwelt gelangen. Zuweilen sind die Eier außerordentlich zahlreich in der Serosa und Subserosa des Dünndarmes. Die Anhäufung der Eier in den letztgenannten Geweben verursacht manchmal knotenförmige oder lappige, bis dendritische Gewebswucherungen. Weiter werden die Eier gelegentlich embolisch in verschiedene

Gewebe und Organe fortgeschleppt, wenn es sich nur um eine geringere Zahl handelt, so z. B. wurden in Japan schon drei Fälle mitgeteilt, bei welchen im Gehirn eierhaltige Herde nachgewiesen waren.

Unsere Schistosomen können ohne Zweifel über 2 Jahre lang leben, denn ich erhielt einmal 21 Monate alte Parasiten, die sich im Pfortadersystem eines experimentell in infiziertes Wasser eingetauchten Hundes befanden, zur Beobachtung; diese Parasiten hatten noch lebhaft fungierende Genitalien.

Wie lange Wurmbrut, welche direkt in den Körper des Endwirtes eindringt, in der Außenwelt selbständig am Leben bleibt, darüber wissen wir nichts Sicheres. Die aus den Eischalen heraus gekommenen Miracidien gehen meist bald zugrunde, wie ich bereits im vierten Kapitel angegeben habe. Daß diese frei gewordenen Miracidien durch physikalische und chemische Eingriffe leicht abgetötet werden, darüber findet man Genaueres im Kapitel Prophylaxe.

Die Lebensdauer der Eier ist von ihrem Fundort und von den Umständen der Außenwelt abhängig. Bei niedriger Temperatur wird das Auskriechen der Miracidien verzögert, ohne daß sie jedoch an ihrer Entwicklungsfähigkeit relativ verlieren. Dagegen kommen sie bei wärmerer Temperatur, z. B. im Frühling oder Sommer schnell zur Welt.

Yoshioka (14) teilte zuerst mit, daß die Eier zugrunde gehen, wenn man die Kotmasse im Düngertrog etwa 10 Tage lang stehen läßt. Dies haben experimentell Fujinami und ich bestätigt. Es bleibt aber dahingestellt, ob sich in allen Jahreszeiten unter natürlichen Verhältnissen dasselbe Resultat ergibt.

Wie lange die Eier im Gewebe des Wirtes am Leben bleiben, konnten wir bis jetzt nicht bestimmt nachweisen. Es ist übrigens praktisch ohne große Bedeutung. Es ist sehr auffällig, daß der Inhalt der Eier, die im Gewebe abgelagert sind, sich nur bis zum Miracidium entwickelt und nie weiter fortschreitet. Die Widerstandsfähigkeit der Eischale im Gewebe ist auffallend, so z. B. beobachtete ich einen Fall, in welchem nach 7—8 Jahren mehrere, noch die eigentliche Gestalt zeigende Eier in der Leber und der Darmwand angetroffen wurden.

Yoshimoto (15), Hayami und Tanaka (16) stellten bei einigen Tieren die Komplementbindungsreaktion mit positivem Resultate an. Dabei benutzten sie als Antigen wässrige und alkoholische Extrakte der Würmchen. Ferner konnte Yagi (17) aus getrockneten Würmern mit Aether eine hämolysierende Substanz ausziehen.

Hier muß ich die interessante Tatsache mitteilen, daß man in Schistosomengegenden zweilen eine relative Immunität gegen Schistosomiasis japonica antrifft. Diese relative Immunität kommt wahrscheinlich von der langjährigen, in geringem Grade wiederholten Invasion her, z. B. können wir folgenden Fall anführen.

Pat. ist ein 53-jähriger Mann, Teraoka, aus dem Dorfe Oé (einer Schistosomenfundstätte), Provinz Okayama. Seit 1909 half er mir immer bei meinen Experimenten in den verseuchten Gegenden und es tauchten seine Schenkel gleichzeitig mit Versuchstieren in Grabenwasser oder in Reisfelder. Trotzdem wir mit seiner Hilfe jedes Jahr sehr zahlreiche schistosomiatische Tiere erhielten, zeigte er bis jetzt keine schweren krankhaften Erscheinungen, obchon sich in seinem Kote manchmal Schistosomeneier fanden. Natürlich entleerte er in früherer Zeit manchmal schleimig-blutigen Stuhl und sein Bauch war stark aufgetrieben, schließlich ging seine Körperentwicklung zurück (Körperlänge mißt nur 142 cm).

Hieraus dürfen wir wohl schließen, daß gegen Schistosomiasis japonica auch eine Art von Immunität eintritt, wenn wiederholt eine geringere Zahl von Würmern in den Körper des Menschen eindringt.

## VI. Pathogene Bedeutung.

(Fig. 9.)

Unseres Wissens werden in Japan ungefähr drei endemisch mit Schistosomiasis japonica verseuchte Gegenden erwähnt, die Umgebung der Stadt Kohfu in der Provinz Yamanashi, die sogenannte Katayamagegend der Provinz Hiroshima und die Ufergegend des Flusses Chikugo in der Provinz Saga. Daß in diesen als infiziert berüchtigten Gegenden öfters ähnliche Ueberschwemmungen wie in Aegypten vorkommen, ist sehr beachtenswert. Die Zahl der von Schistosomen Invadierten an den eben genannten drei Hauptquellen muß äußerst groß sein; Krankheitserscheinungen treten jedoch nicht in allen Invadierten auf, auch ist eine mikroskopische Untersuchung auf Eier in den Faeces bisweilen vergeblich. Aus diesen Gründen ist es manchmal sehr schwer, die wirkliche Zahl der von Parasiten Invadierten zu nennen. Daß nach japanischen Klinikern mehr Männer als Frauen erkranken, beweist nur, daß jene häufiger als diese Gelegenheit zur Infektion haben. Der Krankheitsbeginn findet meist in der Jugendzeit statt.

Die Nahrung der Würmer muß natürlich das Blut des Wirtes sein; die Entnahme von Blut kann bei Anwesenheit zahlreicher Parasiten Blutarmut verursachen. Es werden sogar die Blutkörperchen des Wirtes durch die Anwesenheit von Wurmkörpern mehr oder weniger mechanisch zerstört.

Die Würmer liefern wahrscheinlich durch eigenen Stoffwechsel toxisch wirkende Produkte, die vielleicht Vergrößerung z. B. der Milz im Anfangsstadium verursachen können.

Einige klinische Untersuchungen ergaben eine mehr oder weniger starke Verminderung des Hämoglobins und Vermehrung der eosinophilen Leukocyten.

Phlebitis und Thrombose des Pfortadersystems wurden besonders an der menschlichen Leiche nicht selten konstatiert. Diese Phlebitis verursachten hauptsächlich die mechanischen Einwirkungen der Würmer, wobei es von Wichtigkeit sein dürfte, daß die Würmer mit ihren Bauchsaugnäpfen an der Intima der Pfortader fest haften. Thrombenbildung kann primär vorkommen, aber sie verbindet sich meist mit Phlebitis. Den beiden letztgenannten Vorgängen folgt sehr häufig eine hochgradige Stauung im Pfortadergebiet.

Was aber bei der Entstehung der Schistosomiasis japonica die wichtigste Rolle spielt, ist natürlich die Ansiedlung der abgelegten Eier in den verschiedenen Geweben und Organen.

Die Eier werden mit dem Blutstrom (gelegentlich auch mit dem Lymphstrom) in die verschiedenen Gewebe transportiert, und dann können sie ihre Form, je nach der Umgebung, leicht verändern und infolgedessen durch relativ feinere Gewebespalten hindurchgehen. Deswegen werden die Eier in fast allen Organen und an verschiedenen Stellen eines Organes herumgeführt, wenn auch nur in geringerer Menge.

Die Ansiedelung der Eier ruft in verschiedenem Maße entzündliche Infiltrationen und Granulationswucherungen hervor, entweder in Form umschriebener oder diffuser Knötchen. Ferner bilden sich nicht selten Fremdkörperriesenzellen um und in den Eiern. In späteren Stadien

folgt den obenerwähnten Vorgängen eine Bindegewebswucherung, deren Grad je nach dem Falle sehr verschieden ist.

Wichtige klinische Erscheinungen unserer Schistosomiasis werden hauptsächlich durch die Veränderungen der Leber und des Darms hervorgerufen, welche durch die Ansiedelung der Eier verursacht werden.

**Leber:** Falls *Schistosomum japonicum* im Pfortadersystem des Menschen und der Tiere parasitiert, kommen seine Eier mehr oder weniger immer in der Leber vor, in welcher sie entzündliche Infiltrationen und weiterhin Granulationswucherungen hervorrufen. In diesem Stadium vergrößert sich das Volumen der Leber. Im weiteren Verlauf erfolgt Bindegewebswucherung; das gewucherte interstitielle Bindegewebe kontrahiert sich früher oder später und infolgedessen wird die Leber verkleinert. Die Leber zeigt also eine Art Cirrhose, wobei ihre Oberfläche grob und unregelmäßig granuliert ist. Auf diese Form der Lebercirrhose hat Yamagiwa (18) bereits aufmerksam gemacht und das Wort „Hepatitis parasitaria embolischer Natur“ eingeführt. Die obengenannte Veränderung der Leber hat dann mehr oder weniger starke Erscheinungen von Pfortaderstauung zur Folge (Fig. 9).

**Darm:** In der Submucosa und Mucosa des Darmes, vornehmlich des Dickdarmes, finden sich in den meisten Fällen auch Eier, welche mehr oder weniger schwere Entzündungen (Katarrhe) verursachen, die teils zu Gewebszerstörungen, teils zu Gewebswucherungen führen; letzteren folgen manchmal geschwulstartige Neubildungen an der Darmwand; aus ersteren entstehen häufig Geschwürsbildungen in der Darmschleimhaut. Zuweilen werden die Eier mehr in der Serosa und Subserosa des Darmes, insbesondere des Dünndarmes, abgelagert, wodurch an der betreffenden Stelle polypöse oder lappige bis dendritische Wucherungen verursacht werden können.

In seltenen Fällen wurde echte Geschwulstbildung in dem Darm, wo Eier abgelagert waren, und in der Leber beobachtet, z. B. von Kanamori, Kusano (19) u. a. Von unserem Institut wurde ein Fall von Melanom der Leber publiziert, worin Eier abgelagert waren. Beziehungen zwischen der mechanischen Reizung der Eier und der echten Geschwulstbildung sind jedoch nicht ohne weiteres anzunehmen.

**Milz:** Vergrößerung der Milz wird klinisch als ein wichtiges Symptom betrachtet; sie wird durch die toxische Wirkung der Stoffwechselprodukte der Würmer im Anfangsstadium und durch Stauungen im Pfortadergebiet in mehr oder weniger späteren Stadien verursacht. Als Folge der durch Veränderungen der Leber und der Gefäße im Pfortadergebiet verursachten Pfortaderstauungen treten nicht nur Milzvergrößerung (mit Gewebshyperplasie), sondern auch Ascites auf. Das letztere ist bei schwer an Schistosomiasis japonica Erkrankten ein fast stets wahrnehmbares Symptom. Die Ablagerung der Eier in der Milz ist nur ein zufälliger Befund und von keiner großen Bedeutung.

**Gehirn:** Wir kennen nur wenige, aber sehr interessante veröffentlichte Fälle, wo durch Ablagerung der Eier im Gehirn (insbesondere in der Hirnrinde) epileptische Erscheinungen (sog. Jacksonsche Epilepsie) verursacht wurden [Yamagiwa (20), Shimamura und Tsunoda (21), Fujinami (22)].

**Lunge:** In derselben werden häufig zahlreiche disseminierte Eierknötchen beobachtet.

**Lymphdrüsen:** Die Eier sind zuweilen in den Bauchlymphdrüsen in großer Anzahl, sogar massenhaft abgelagert.



Mesenterium, Omentum, das retroperitoneale Bindegewebe, Magen, Oesophagus, Pankreas und Nebennieren können bisweilen Ablagerungsstätten der Eier werden.

In dem Ganglion coeliacum und den Nerven, im Herzen und Rückenmark wurde nur selten das Vorhandensein der Eier von einigen Autoren [z. B. Aoyagi (23), Fujinami-Nakamura (24), Tsunoda (25) u. a.] nachgewiesen.

In der Niere des Menschen wurde nach Fujinami (26) die Ablagerung spärlicher Eier beobachtet. Ich fand bei einem experimentell infizierten Hunde unter der Epithelschicht einige Schistomeneneier abgelagert.

Daß aber die Harnblase in der Regel von der Invasion der Muttertiere und der Eier verschont ist, ist ein wichtiges biologisches Unterscheidungsmerkmal gegenüber der ägyptischen Bilharziasis.

Arbeitet man im Graben oder auf dem Reisfeld in unseren Schistosomengegenden, so wird man sehr häufig ein Exanthem, „Kabure“ in japanischer Sprache, an den Beinen bekommen, soweit sie vom infizierbaren Wasser berührt werden. Daß zwischen dem Hineindringen der Schistosomenbrut und der Kaburebildung eine innige Beziehung vorhanden sein müsse, berichtete ich schon 1904 in meiner ersten Mitteilung über die Entdeckung des *Schistosomum japonicum*. Ein Dermatolog, Matsuura, ist fast derselben Meinung nach scharfsinnigen Beobachtungen.

Am Ende dieses Kapitels ist es mir eine angenehme Pflicht auf die Arbeiten meiner verehrten Kollegen, der Professoren Fujinami und Nakamura und Tsuchiya einzugehen; Fujinami und Nakamura (27) veröffentlichten eine ausgezeichnete pathologisch-anatomische, und Tsuchiya (28) publizierte eine vollständige klinische Arbeit.

## VII. Prophylaxis und Therapie.

Die Prophylaxe richtet sich nach dem Entwicklungsmodus und den biologischen Eigenschaften des *Schistosomum japonicum*, weswegen man passend von einer aktiven und passiven Prophylaxe sprechen kann.

1. Die aktive Prophylaxe bezweckt, die Parasiten in den Eiern oder in den Stadien der frei gewordenen Miracidien oder der nachherigen Bruten zu vernichten. Zu diesem Zweck sollte man zunächst die eierhaltigen Exkremente vor der Benutzung als Dung kochen und sie nicht im natürlichen Zustande ins Wasser oder auf das Feld schütten. Es kann auch praktisch sein, die eierhaltigen Exkremente noch im Düngertrog über 2 Wochen stehen zu lassen.

Daß die aus den Eierschalen ausgeschlüpften Miracidien gegen gewisse physikalische und chemische Einwirkungen sehr empfindlich sind, teilte ich schon 1909 nach eigenen exakteren Untersuchungen mit. Das Ergebnis einiger Chemikalien war folgendes:

Chemische Substanzen	Verdünnungsgrad	Zeitraum zum Absterben
Salzsäure	0,1 Proz.	sogleich nach der Einwirkung
Sublimat	0,1 „	dgl.
Kalkmilch	20,0 „	„
Karbolsäure	1,0 „	„
Kresol	1,0 „	„
Kaoh-Seife	0,1 „	„
Kalkstickstoff	1,0 „	„
Kalkstickstoff	0,1 „	innerhalb 1 Minute



Es ist aber die Frage, ob unsere Schistosomenbruten in allen Stadien gegen die obenerwähnten Chemikalien so empfindlich sind. Doch hat Fujinami (29) den praktischen Wert von gebranntem Kalk als Desinficiens für Gräben und Reisfelder in den verseuchten Gegenden hervorgehoben, nachdem er Experimente gemacht hatte. Weil der gebrannte Kalk den Boden hart macht, darf man ihn aber nicht auf gewissen Feldern anwenden, trotzdem seine prophylaktische Wirkung anerkannt werden muß. Aus dem eben genannten Grunde haben wir (Niino, Katsurada und Hashegawa) einen neuen künstlichen Dünger, Kalkstickstoff-Calcium cyanamid zur Desinfektion von Gräben und Feldern angewandt und gute Resultate erzielt.

2. Die passive Prophylaxe hat vor dem Eindringen der Krankheitserreger zu schützen. Zu diesem Zweck ist es am besten, alle Gelegenheiten zu vermeiden, wo Körperteile mit verdächtigem Wasser in Berührung kommen können. Dies wird aber in Japan kaum möglich sein; daher müssen wir empfehlen, bei der Reisfeldarbeit wasserdichte Bein- und Handbekleidungen zu tragen. Wenn man trotzdem noch Körperteile mit verdächtigem Wasser beschmutzt hat, so sind diese mit verdünnter Salzsäure oder Seifenwasser zu reinigen.

Daß an Schistosomiasis japonica erkrankte Menschen und Tiere natürlich zufällig auf dem Reisfelde den Kot von sich geben, ist viel gefährlicher, als wenn man veraltete Exkreme als Dung benutzt, müßte also streng verboten werden.

Die Behandlung kann bei dieser Krankheit nur eine symptomatische sein. Eine vollständige Radikaltherapie ist noch unbekannt, trotzdem dieselbe von zahlreichen Klinikern, besonders von Tsuchiya, studiert wurde. Daß „Chininum hydrochloricum“ jedoch gegen *Schistosomum japonicum* vortrefflich einwirkt, wurde 1910 zuerst von Tsuchiya (30) angegeben, der damit ausgezeichneten Erfolg in der Abtötung der Parasiten im Körper der Hunde hatte.

Ein tüchtiger Schistosomenforscher, Miyagawa (31) wandte bei einem neu an Schistosomiasis japonica erkrankten Patienten Chininum hydrochloricum innerlich an, hatte aber nicht den erwarteten Erfolg.

Zum Schlusse spreche ich meinem verehrten Kollegen, Herrn Dr. T. Hashegawa, für seine lebenswürdige Unterstützung bei der Veröffentlichung vorstehender Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

Berlin, im August 1913.

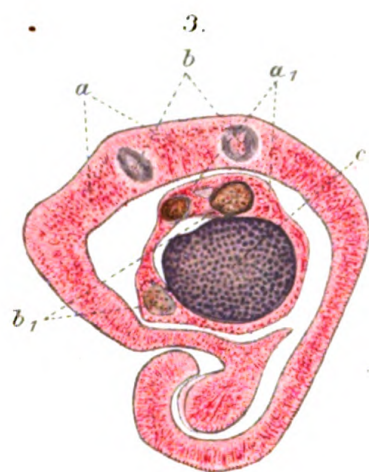
Nachtrag: Bei der Korrektur dieser Arbeit habe ich von einem Kollegen in Japan eine Nachricht erhalten, daß Herr Miyairi, der Professor an der medizinischen Fakultät zu Kiushu ist, einen Generationswechsel der Brut des *Schistosomum japonicum* bei einer *Limnaeus*-Art nachwies.

Berlin, 23. Oktober 1913.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Yamagiwa, Mitteil. d. med. Gesellsch. Tokio. Bd. 4. 1890. No. 22.
- 2) Kurimoto, Mitteil. d. med. Gesellsch. Tokio. Bd. 7. 1893. No. 22—23.
- 3) Fujinami, Kyoto Igaku-Zasshi. Bd. 1. 1904. H. 1.
- 4) Majima, Mitteil. d. med. Gesellsch. Tokio. Bd. 2. 1887. No. 16—17.
- 5) Kasai, Mitteil. d. med. Gesellsch. Tokio. Bd. 18. 1904. No. 3—4.





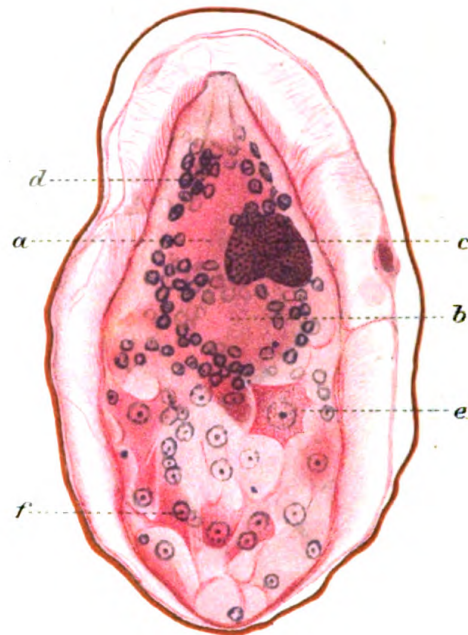




7.



8.



9.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. A. Giltisch, Jena.

- 6) Katsurada, Ueber eine endemische Krankheit in der Provinz Yamanashi. (Mitteil. d. med. Gesellsch. Okayama. 1904. No. 1173); Die Feststellung des Krankheits-erregers der endemischen Krankheit in den Provinzen Yamanashi, Hiroshima, Saga usw. (Japan. Reichsanzeiger. No. 6337. 13. August 1904.)
- 7) Fujinami, Kyoto Igaku-Zassi. Bd. 1. 1904. H. 3.
- 8) Tsuchiya, The Tokyo Iji-Shinshi. No. 1375. 1904.
- 9) Catto, Brit. med. Journ. No. 2297. 1905.
- 10) Wooley, The Philippine Journ. of Science. Vol. 1. 1906. No. 1.
- 11) Leiper, Repr. fr. the Transact. of the Soc. of Trop. Med. and Hyg. Vol. 4. 1911. March.
- 12) Looss, Journ. of Trop. Med. and Hyg. June 15. 1911.
- 13) Miyagawa, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. p. 406.
- 14) Yoshioka, Vorläufige Mitteilung zur Prophylaxe der Schistosomiasis japonica. 1910.
- 15) Yoshimoto, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 5. p. 438.
- 16) Hayami u. Tanaka, Kyoto-Igaku-Zassi. Bd. 7. 1910.
- 17) Yagi, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. Bd. 62. H. 2—3.
- 18) Yamagiwa, Mitteil. a. d. med. Fakult. d. kaiserl. japan. Univers. Tokio. Bd. 6. 1904. H. 3.
- 19) Kanamori, Mitteil. d. med. Gesellsch. Tokio. Bd. 12. 1898. No. 2. — Kusano, Gann. Vol. 1. 1907. No. 2.
- 20) Yamagiwa, Virchows Arch. Bd. 119. 1890. H. 3.
- 21) Shimamura u. Tsunoda, Kyoto-Igaku-Zassi. Bd. 2. 1905. No. 3.
- 22) Fujinami, Die jap. Schistosomum-Krankheit. Dresden 1911
- 23) Aoyagi, Mitteil. d. med. Gesellsch. Tokio. Bd. 24. 1910. No. 5.
- 24) Fujinami-Nakamura, Verh. d. jap. pathol. Gesellsch. I. Tagung. 1911.
- 25) Tsunoda, Kioto-Igaku-Zassi. Bd. 2. 1905. No. 3.
- 26) Fujinami, Die jap. Schistosomum-Krankheit. Dresden 1911.
- 27) Fujinami-Nakamura, Verh. d. jap. pathol. Gesellsch. I. Tagung. 1911.
- 28) Tsuchiya, Virchows Arch. Bd. 193. 1908.
- 29) Fujinami-Nakamura, Chugai-Iji-Shimpo. No. 753.
- 30) Tsuchiya, Mitteil. d. jap. hyg. Gesellsch. Bd. 6. 1910.
- 31) Miyagawa, Mitteil. d. med. Gesellsch. Tokio. Bd. 26. 1912. No. 22.

#### Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. *Schistosomum japonicum* Katsurada. Männchen im Canalis gynaecophorus das Weibchen führend. 21 Monate alt. Frisches Präparat. Schwache Vergr. Wirt: Hund. (Im Text.)

Fig. 2. Junges *Schistosomum*, etwa 7 Tage alt. Aus der Pfortader einer Katze. Länge 0,44 mm, Breite 0,12 mm. Frisches Präparat. Vergr. etwa 325. (Im Text.)

Fig. 3. Querschnitt durch ein *Schistosomum*-Pärchen auf der Höhe des Keimstockes. *a* und *a*<sub>1</sub> (rote Körner) Glykogen im Parenchym des Männchens und des Weibchens; *b* und *b*<sub>1</sub> Darmkanal des Männchens und des Weibchens; *c* Keimstock. Bests Karminfärbung. Vergr. etwa 85.

Fig. 4. Uterusei von *Schistosomum japonicum*. Wirt: Hund. Vergr. etwa 800.

Fig. 5. Ei von *Schistosomum japonicum*. (Man findet keinen Seitenstachel.) Wirt: Hund. Kotpräparat. Vergr. etwa 800.

Fig. 6. Ei von *Schistosomum japonicum*. (Man findet eine Verdickung an einer Stelle der Schale.) Wirt: Hund. Kotpräparat. Vergr. etwa 800.

Fig. 7. Ei von *Schistosomum japonicum*. (Schale ist der Länge nach geborsten.) Wirt: ein 49-jähr. Mann. Kotpräparat. Vergr. etwa 800.

Fig. 8. *Schistosomum*-Ei in der Submucosa des Ileums einer Katze. *a* Magenraum des Miracidium; *b* Darmsack (nach der Meinung Nakayamas); *c* einzellige Drüsen; *d* Drüsenzellen an der Magenwand; *e* Nervenzellen; *f* Parenchymzellen. Häm.-Eosinfärbung. Vergr. etwa 800.

Fig. 9. Lobus dexter der Leber von einem 39-jähr. an Schistosomiasis japonica verstorbenen Manne. *a* Im interacinösen Bindegewebe abgelagerte Schistosomeneier, in deren Umgebung findet man noch kleinzellige Infiltration; *b* verdickter Bindegewebszug; *c* Ei im Intraacinus; *d* Eier im intraacinösen gewucherten Bindegewebsherd. Häm.-Eosinfärbung. Vergr. etwa 80.

*Nachdruck verboten.*

## Notes de Parasitologie.

[Laboratoire d'Histoire naturelle médicale et Parasitologie de  
l'Université de Jassy, Roumanie.]

Par **N. Leon, Jassy.**

Avec 6 figures.

### **Mort par asphyxie produite par des ascarides.**

Un enfant est mort asphyxié par des ascarides. Le cas est le suivant:

Gh. Grigoras, âgé de trois ans, de la commune de Tutzora, hameau de Ciupercesti, département de Jassy, entré dans la cure de l'hôpital «La Charité» le 30 juin 1911, mort le 11 juillet 1911.

Des antécédents héréditaires rien d'important. Comme antécédents personnels les parents nous disent que l'enfant dépérit depuis quelque temps, n'est plus aussi pétulant, n'a pas d'appétit, transpire la nuit, toussé et ensuite vomit, et enfin maigrit, ce qui les a déterminés à amener l'enfant à l'hôpital «La Charité» dirigé par le Dr. Immerwohl.

Etat présent: L'enfant est bien développé par rapport à son âge, les téguments et les muqueuses sont anémiés, la musculature réduite, le tissu graisseux réduit et en partie disparu, l'attitude et le regard dénotent la souffrance. À la percussion, à peu près sur toute l'étendue du poumon droit, matité; au poumon gauche une très légère sous-matité.

À l'auscultation respiration âpre sur toute l'étendue du poumon droit et dans la région de l'extrémité du poumon gauche.

Ces symptômes cliniques unis aux symptômes subjectifs, toux, diaphorèse exagérée pendant la nuit, fièvre hectique, selles diarrhéiques, etc. font mettre le diagnostic de la tuberculose généralisée.

En effet, c'est ainsi que la maladie évolue jusqu'au jour du 11 juillet quand, à la suite d'un accès de toux suivi de vomissement dans lequel se trouve un ascaride, le malade présente des symptômes alarmants d'asphyxie manifestée par une toux convulsive, la cyanose, la peur, etc. et malgré tous les soins que l'on s'empresse de lui donner le patient meurt au bout de quelques minutes.

L'autopsie du cadavre a été faite par le Dr. Grossi.

À l'inspection le cadavre ne présente rien d'important à noter; l'abdomen est un peu ballonné.

Il est fait une incision médiane du menton jusqu'à la symphyse du pubis pour ouvrir les cavités thoracique et abdominale.

Le poumon droit est adhérent, de couleur cendrée, enduré, et présente une série de nodules de différentes grandeurs répandues dans sa masse et une partie en ayant été sectionnés il a été démontré que c'étaient des tubercules caséeux dégénérés.

Le poumon gauche est flasque, le bord antérieur en est emphysémateux, le bord postérieur congestionné présente lui aussi quelques tubercules dans la région du sommet.

Ayant retourné la masse pulmonaire du côté postérieur nous observâmes à la surface, dans le médiastin postérieur du hile du poumon droit un ascaride, en forme d'anse. L'ayant tiré nous le vîmes sortir de la bronche droite par une perforation de la paroi bronchiale contiguë aux ganglions intertrachéobronchiques caséifiés et ramollis.

Le cœur a un peu augmenté de volume, surtout le ventricule gauche; les valvules sont suffisantes.

Le foie a augmentée de volume et est en dégénérescence graisseuse.

Le spleen est augmenté de volume, de coloration lie de vin. Les intestins détendus de gaz, ayant été ouverts dans toute leur longueur, ne montrent aucune espèce de parasite.

Le mésentère et le péritoine sont semés de petits tubercules.

Les rognons augmentés de volume, la capsule se détachant facilement, sont en dégénérescence amyloïde. Le crâne n'a pas été ouvert.

Quoique l'enfant ait été malade de tuberculose généralisée sa mort n'en est pas moins due à l'asphyxie produite par un ascaride qui a émigré de l'intestin, s'est élevé dans le pharynx et de là a pénétré pendant un accès de toux dans le larynx, la trachée et ensuite est descendu dans la bronche droite, a déchiré cette paroi qui était infiltrée parce que contiguë aux ganglions intertrachéobronchiques ramollis et est apparu dans le médiastin postérieur en forme d'anse (fig. 1).

Je n'aurais pas publié ce cas d'asphyxie par ascaride chez l'homme si je n'avais pas eu un cas analogue chez un chien, lequel cas prouve jusqu'à l'évidence que les ascarides émigrent aussi pendant la vie de l'hôte et non seulement après la mort de l'hôte comme le croient certains auteurs.

J'avais un chien basset d'environ un an et demi, sain, intelligent et très vif. Un jour qu'il était avec moi dans ma chambre de travail il commença à tousser d'une toux qui faisait comprendre qu'il s'était étouffé avec quelque chose quoiqu'il n'eût rien mangé en ce moment-là. Après quelques accès le chien expira dans mes bras. Croyant qu'il avait été empoisonné je fis immédiatement son autopsie. Tous les organes étaient en parfait état mais je trouvai dans l'œsophage deux ascarides et dans la trachée un paquet de cinq ascarides. Dans l'intestin il y avait deux *Dipilidium* et



Fig. 1. Un bocal de verre qui contient dans de l'alcool une portion de poumon traversé par un ascaride en forme d'anse.



plusieurs ascarides. Si les ascarides de la trachée n'avaient pas émigré tous les cinq en même temps et avaient passé les uns après les autres il est probable que le chien n'aurait pas succombé si vite tandis que c'est en procédant de la sorte qu'ils ont oblitéré la trachée et asphyxié l'animal. Les trois ascarides de la trachée tendaient sûrement, eux aussi, à s'introduire dans la trachée.

Les parois de la trachée étaient inflammées, non seulement dans la portion où se trouvaient les ascarides mais aussi dans la partie supérieure par où ils avaient passé. Il y avait aussi, entassée entre les ascarides, une quantité de mucus, réaction qui ne se produit qu'à l'état vivant.

Ces deux cas prouvent une fois de plus que la migration des ascarides ne se produit pas seulement après la mort de l'hôte, comme le croyait Davaine, mais aussi pendant sa vie.

### Un cas de *Trichorexis nodosa*.

Le patient est un ancien élève à nous, aujourd'hui docteur en médecine. Nous donnons son autoobservation comme elle a été rédigée par lui même.

«Etudiant en médecine, âgé de vingt-cinq ans, j'étais il y a deux ans à Slanica en Moldavie, une station balnéaire où j'entrai un jour pour me raccourcir les moustaches chez un barbier pas très propre et possesseur de ciseaux qui ne l'étaient pas plus. Deux jours après le même barbier m'a frisé les moustaches au fer chaud. Six jours après j'ai observé que sur quelques poils de la moustache, des deux côtés avaient apparu des points blanchâtres (fig. 5), et qu'à ces endroits le poil s'enflait, crevait, devenait fragile et se brisait; le bout qui restait avait une fausse apparence de pinceau (fig. 2).

La moustache commença à se décolorer, à devenir tout à fait rude, ses brins en devenaient cassants et ceux qui étaient particulièrement malades s'effilaient facilement.

J'essayai tous les antiseptiques et voyant qu'aucun ne donnait de résultat je me décidai à me raser les moustaches. Six mois après, temps pendant lequel je me rasais tous les deux jours je laissai repousser la moustache.

Quand le poil eut repoussé, après un mois et demi, j'observai de nouveau que la maladie avait réapparu sous le même aspect. Présentement je maintiens mes moustaches dans un état de santé relative en faisant des lavages journaliers avec une solution d'acide acétique 3% et même 5%.

La cause de cette affection n'est pas encore établie. Quelques auteurs croient que ce seraient des champignons.

Desenne déjà en 1878 a présenté à l'Académie de Paris deux cas de *Trichorrhæxis* dans lesquels il croyait avoir trouvé des champignons. D'autres auteurs croient que la maladie serait de nature microbienne. Le Dr. Stanislaus Markusfeld croit avoir démontré en 1897 que la cause en est un bacille. D'après Beigel cela est dû à certains gaz qui, se produisant dans la substance même des poils de la moustache, provoquent ces renflements de distance en distance. Kaposi, Michelson et autres croient à un manque de nutrition des cheveux.

Nous avons cultivé sur des pommes de terre le contenu des poils malades et nous avons obtenu une végétation de colonies irrégulières. L'apparition de colonies était irrégulière, colorée en gris blanchâtre, gris brunâtre ou même, simplement brunâtre.

La pomme de terre prend rapidement une pigmentation brunâtre.

En répétant à plusieurs reprises les cultures sur des pommes de terre j'ai toujours obtenu la même espèce de végétation.

Examinés au microscope les champignons se présentaient sous forme de filaments composés d'articles courts, cylindriques ou plus rarement légèrement renflés (fig. 3).

Quant aux organes de reproduction, ils se distinguent par l'extrême abondance des fuseaux (fig. 4) qui sont divisés en logettes multiples, au nombre de six à dix.

Ce parasite paraît être ex-



Fig. 2.



Fig. 4.

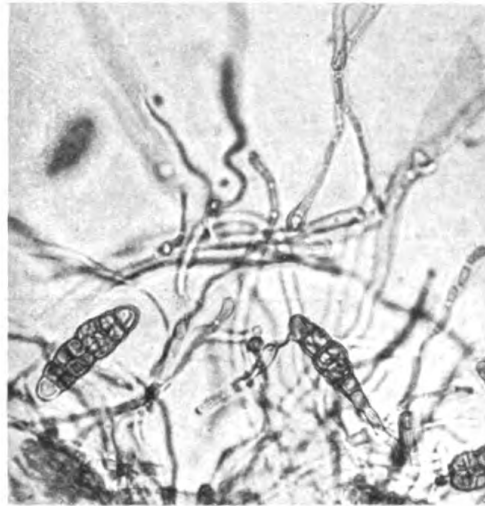


Fig. 3.

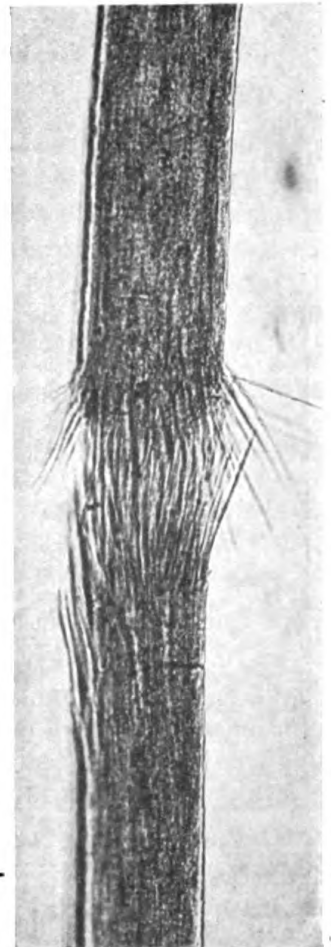


Fig. 5.

Fig. 2. Poil de moustache atteint à l'extrémité de *Trichorhesis nodosa*.

Fig. 3. Le champignon. Culture sur pomme de terre.

Fig. 4. Conidies fuselées. Culture sur pomme de terre.

Fig. 5. Poil de moustache atteint au milieu de *Trichorhesis nodosa*.

clusif à l'espèce humaine. Quand je l'ai inoculé au chat, au chien, au lapin et au cobaye il m'a été impossible d'obtenir des *Trichorhexis nodosa*.

### Un cas de Creeping disease en Roumanie.

Au mois de septembre 1912, M. le docteur Nimereanu, médecin en second à la clinique dermato-syphilitique de l'hôpital de St. Spiridon de la ville, a eu l'amabilité de me prier de venir voir à la clinique, une



Fig. 6. Le trajet parcouru sous la peau par la larve est visible sur la peau sous la forme d'une ligne sinueuse ponctuée.

femme d'environ quarante-deux ans, Nica Paraschiva, qui se plaignait de douleurs dans le dos accompagnées de puissantes démangeaisons et de piqûres surtout pendant la nuit à la chaleur du lit.

Ayant examiné la malade j'observai sur la peau, à la partie supérieure du dos, vers le milieu, une ligne rouge, large d'un à deux millimètres. La femme est restée à l'hôpital du 12 au 26 septembre et pendant tout ce temps cette ligne progressa.

Sur la photographie ci-jointe (fig. 6) on peut voir le tracé que la larve a fait pendant les quatorze jours que la femme est restée à l'hôpital. La larve se dirigeait du milieu du dos vers la gauche, de haut en bas,

jusque vers le sein gauche, ensuite revenait de nouveau vers le milieu du dos en suivant une ligne sinueuse. Pendant quelques jours (de un à trois) la larve restait probablement plus à la surface du corps et pendant tout le temps que le tracé restait stationnaire la démangeaison cessait. Après un certain temps la larve recommençait sa manœuvre reproduisant de nouveau à la surface de la peau une ligne sinueuse du milieu du dos vers la gauche. Ensuite pendant quelques jours on ne voyait plus de nouvelles lignes, puis il en réapparaissait ce qui fit, pendant les quatorze jours que la femme resta à l'hôpital, quatre séries de lignes sinueuses comme on peut le voir sur la photographie. La femme n'ayant plus voulu rester à l'hôpital, car elle devait retourner au travail, quitta alors le service. Les derniers jours la femme n'eut plus de démangeaisons soit que la larve eut atteint son complet développement, soit qu'elle sortit de sous la peau, soit qu'elle fit une pause plus longue dans son voyage sous-cutané.

*Nachdruck verboten.*

## Der Komplementschwund und seine Beziehungen zur Anaphylaxie.

Erwiderung an Dr. Bruno Busson.

Von E. Friedberger und O. A. Cederberg.

Busson wendet sich in seinen Ausführungen in Bd. 70. Heft 7 dieses Centralblattes gegen die Argumente, die Friedberger und Cederberg gegen die Deutung früherer Versuche von Busson und Takahashi vorgebracht haben. Die jetzigen Ausführungen von Busson sind, wie im nachfolgenden gezeigt werden soll, trotz der Bestimmtheit, mit der sie vorgebracht wurden, in keiner Weise geeignet, unsere früheren experimentellen Einwendungen zu widerlegen. Sie bringen keine neuen Versuche und auch sonst nichts, was die Autoren dazu berechtigt, zu behaupten, daß unsere Ausführungen „nur neuerliche Widersprüche gegen die eigene bis dahin von Friedberger selbst vertretene Auffassung enthalten“.

Auf die von den Autoren erneut herangezogene Arbeit von Tsuru braucht nicht näher eingegangen zu werden, da dessen Methode sowohl wie die Ausführung seiner Versuche nach dem übereinstimmenden Urteil von Doerr, Friedberger und Sleeswijk durchaus mangelhaft war.

Was dann die erwähnten Versuche Sleeswijks anlangt, so hat dieser Autor, da er sich noch nicht einer quantitativen Auswertungsmethode bediente, die Komplementverarmung erst einige Zeit nach dem Shock konstatiert, und deshalb von seinem Standpunkt aus mit Recht nicht in direkten, ursächlichen Zusammenhang mit der anaphylaktischen Vergiftung gebracht. Das, was von Friedberger und Hartoch zuerst festgestellt und von uns in zahlreichen neuen Versuchen bestätigt wurde, ist aber die Tatsache, daß der Komplementschwund bereits mit dem Eintritt der Vergiftungssymptome nachweisbar ist, erst dies berechtigte, an einen ursächlichen Zusammenhang zu denken.

Erste Abt. Orig. Bd. 72.

Heft 4/5.

25

Darauf bezieht sich das von Busson angeführte Zitat aus der Arbeit von Friedberger und Goldschmidt, das Busson gänzlich mißverstanden zu haben scheint; denn die Komplementverarmung konnte ja erst dann mit der anaphylaktischen Vergiftung in Zusammenhang gebracht werden, wenn sie zeitlich mit dieser einsetzte, einerlei wie lange sie schließlich über die Symptome, bzw. den Tod hinaus fortbestand. Es spricht nämlich keineswegs gegen die Beteiligung des Komplementes bei der Anaphylaxie, wenn dieser Serumbestandteil noch nach der Vergiftung weiter abnimmt, ebensowenig wie es gegen die essentielle Rolle eines Bacillus bei einer Infektion spricht, wenn dieser auch nach dem Tode unter Umständen in der Leiche weiterwächst.

Wenn Busson jetzt von neuem gegen ältere Versuche von Friedberger und Hartoch diskutiert, in denen der spätere Komplementschwund nicht beobachtet wurde, so scheint er folgende Stelle in unserer Arbeit übersehen zu haben:

„Wenn nun der weitere Komplementschwund nach dem Ablauf des anaphylaktischen Shocks von Friedberger und Hartoch nicht beobachtet wurde, so liegt das daran, daß die Autoren, wie Loewit und Bayer ganz richtig hervorheben, nicht bei einem und demselben Meerschweinchen zu verschiedener Zeit nach der Reinjektion Blut entnahmen, sondern verschiedene Tiere miteinander verglichen, was in Anbetracht der Schwankungen bezüglich des Komplementschwundes bei den einzelnen Individuen keine sicheren Schlüsse gestattet.“

Wenn er weiter schreibt, „daß diese Befunde mit der Friedbergerschen Auffassung nicht in Einklang zu bringen sind, scheint Friedberger selbst einzusehen, denn es bedeutet wohl eine Art Kompromiß, wenn er nunmehr der Ansicht wurde, daß nur ein geringer Teil des Komplementverlustes auf Rechnung direkter Beteiligung des Komplementes zur Giftbildung zu setzen ist, daß aber im übrigen das Komplement auch zur Entgiftung und zum weiterem Abbau des eingebrachten Antigens verbraucht wird“, so scheinen dem Autor die früheren Arbeiten von Friedberger unbekannt zu sein, denn sonst hätte er wissen müssen, daß er nicht erst „nunmehr der Ansicht wurde“, daß das Komplement auch bei dem Entgiftungsprozeß eine Rolle spielt. Der Autor übersieht vollkommen, daß die Anaphylaxie lediglich eine Phase des Abbauprozesses, der durch die Komplementverankerung an die Antigenantikörperverbindung eingeleitet wird, darstellt, so daß aus der Tatsache, daß die Komplementverarmung die Anaphylaxie überdauern kann, sich keineswegs ergibt, „daß dem Komplementschwund auch andere Ursachen zugrunde liegen“.

Busson befindet sich also in einem Irrtum, wenn er meint, daß auf Grund der Untersuchungen von Busson und Takahashi die Annahme einer einheitlichen Ursache von uns aufgegeben worden sei.

Was die Versuche dieser Autoren anlangt, so haben sie lediglich aus der Tatsache, daß sie Komplementschwund bei Reinjektion von Pferdeserum bei ihrer Versuchsanordnung meist vermißten, geschlossen, daß das Komplement bei der Anaphylaxie nicht regelmäßig interveniert und deshalb keine essentielle Rolle spielen könne. Sie haben diesen viel zu weit gehenden Schluß gezogen und halten ihn auch noch heute aufrecht, im Gegensatz zu der vorsichtigen Folgerung von Loewit und Bayer, die auf Grund ähnlicher Versuche folgerten, daß „das Ausbleiben einer quantitativen Abnahme des Komplementgehaltes nicht un-

bedingt in dem Sinne gedeutet werden muß, daß eine qualitative Mitwirkung des Komplementes nicht trotzdem stattgefunden habe“.

Die Autoren übersehen auch, indem sie die Resultate von Loewit und Bayer mit Eiereiweiß zu Unrecht als Stütze für ihre Behauptung jetzt heranziehen, daß diese Autoren gerade mit Pferdeserum zu ganz anderen Resultaten gelangt sind, als sie selbst und unter 7 Fällen nur einmal die Komplementverarmung vermißt haben.

Auch wir selbst haben, wie sich aus unserer Arbeit ergibt, meist recht erhebliche und in einzelnen Fällen außerordentlich starke Komplementabnahme mit dem „ungiftigen“ Pferdeserum gesehen<sup>1)</sup>, stärker als Busson sie z. B. mit dem giftigen Hundeserum bei homolog präparierten Tieren erklärt (Vers. 38), so daß also schon damit die Folgerungen von Busson und Takahashi bezüglich des Zusammenhangs des Komplementschwunds bei präparierten Tieren mit der Serumgiftigkeit des Reinjektionsserums in sich zusammenfallen, um so mehr als unsere Nachprüfung der Versuche mit aktivem und inaktivem Hundeserum keineswegs seine mit Takahashi erhobenen Befunde bestätigen konnten.

Bei den minimalen Dosen, die beim präparierten Tier bei der Reinjektion die anaphylaktischen Symptome auslösen, kommt die primäre Giftigkeit angesichts des hohen anaphylaktischen Index überhaupt kaum in Frage. Man könnte sich freilich sehr wohl vorstellen, daß beim normalen Tier eine gewisse Menge eines giftigen Serums einen stärkeren Komplementschwund bedingt, als die gleiche Menge eines ungiftigen Serums, weil das erstere ja im allgemeinen intensivere Schädigung des Organismus zur Folge hat. Indessen ergibt die Nachprüfung der Versuche mit aktivem (giftigem) und inaktivem (ungiftigem) Hundeserum bei normalen Tieren keineswegs eine Bestätigung der von Busson und Takahashi erhobenen Befunde. Angesichts der schwankenden Resultate, die wir in einer größeren Versuchsreihe erhielten, ist es auch nicht angängig, daß Busson und Takahashi drei von uns nebenbei mitgeteilte Versuche mit Rinderserum in ihrem Sinne verwerteten. Uns erscheint, wie wir auch in unserer Publikation hervorheben, dieses spärliche Material einstweilen überhaupt nicht zu irgendwelchen Schlüssen genügend.

Wenn in den Organismus eines präparierten, also antikörperhaltigen Tieres das homologe Antigen bei der Reinjektion eingeführt wird, so findet, darüber kann kein Zweifel bestehen, eine Reaktion zwischen Antigen und Antikörper statt und, ebenso zweifellos muß sich notwendigerweise dabei das Komplement beteiligen. Das ist eine Tatsache, über die überhaupt keine Diskussion mehr möglich erscheint, einerlei, ob man nun dem Komplementschwund eine essentielle oder sekundäre Rolle zuschreiben will. Busson und Takahashi hatten aber überhaupt den Komplementschwund in gewissen Fällen geleugnet. Wir konnten zeigen, daß die Beobachtungen von Busson und Takahashi auf einer ungenügenden Technik beruhen, und daß der Komplementschwund, der ja regelmäßig vorhanden sein muß, sich auch regelmäßig bei geeignetem Vorgehen nachweisen läßt.

1) Wenn trotzdem Busson und Takahashi, ohne neue Versuche beizubringen und ohne die unseren zu widerlegen, an ihrer Behauptung festhalten, daß die Konstatierung der Komplementabnahme keineswegs immer gelingt, so scheint eine weitere Diskussion dieser Frage zwecklos.

Die jetzt von Busson gegen die Titrationsmethode vorgebrachten Einwände sind nicht stichhaltig.

Wenn im Blut eines präparierten Tieres Antigen und Antikörper zusammenstoßen, so wird eine ganz bestimmte, absolute Menge von Komplement, entsprechend der Antigen-Antikörpermenge, beziehungsweise deren Affinität gebunden. Da ja immer auch bei Schwankungen des normalen Komplementgehaltes bei den einzelnen Tieren ein großer Ueberschuß von Komplement anzunehmen ist, so spielen geringe Differenzen der relativen Konzentration keine ausschlaggebende Rolle.

Nehmen wir also an, daß bei einem Tier, das infolge der Präparierung **a** Antikörper besitzt, und bei der Reinjektion **b** Antigen zugeführt erhält, sich eine Antigen-Antikörperverbindung bildet, die **c** Komplement zu binden vermag, so wird eben **c** Komplement verschwinden, ganz einerlei, ob im ganzen 10000 oder 15000 Komplementeinheiten bei dem Tier insgesamt in der Zirkulation vorhanden sind. Ist die Menge **c** eine relativ kleine, so entgeht sie der Beobachtung bei relativ gröberer Messung, wie sie in den Fällen der Komplementtitration mit nicht genügend abgestufter Skala zur Anwendung kam. Es ist eine irrige Behauptung von Busson, daß der absolute Komplementschwund, der lediglich durch die absolute Zahl der Affinitäten in der Antigen-Antikörperverbindung zum Komplement bedingt ist, angesichts des jedesmal vorhandenen enormen Komplementüberschusses durch den relativen Komplementgehalt proportional beeinflußt werde, so daß es dasselbe bedeuten würde, wenn bei ursprünglichem Komplementtiter von 0,07 ein Sinken auf 0,08 statt-hat, als wenn ein anderes Mal der Titer von 0,007 auf 0,008 sinkt. Vielmehr entspricht einer Differenz von 0,008 zu 0,007 = 1 mg in einem Fall die Differenz von 0,080 zu 0,079 = 1 mg; diese tritt aber nur bei einer feineren Messung hervor. Ein einfaches Beispiel wird das klar vor Augen führen:

Denken wir uns, wir hätten in einem Fall 2 Stäbe, die beide 7 cm lang sind, und wir schneiden von dem einen einige Millimeter ab, so wird das bei einer Messung mit einem Zentimeterstab nicht deutlich hervortreten; wohl aber, wenn wir mit einem Millimetermaßstab messen.

Haben wir aber zwei Stäbe zu vergleichen, die kleiner als 1 cm sind, bei denen wir also von vornherein einen Millimetermaßstab anlegen müssen, so tritt eine entsprechende absolute Differenz ohne weiteres deutlich hervor.

Das entspricht vollkommen der Maßmethode bei der Komplementtitration. Wenn der Komplementtiter mehrere Zentigramm beträgt, so merken wir bei Anwendung einer Zentigrammskala eine Differenz von Milligrammen nicht. Wir merken sie aber sehr wohl, wenn der Komplementtiter schon von vornherein innerhalb der Milligrammskala liegt, weil wir dann von vornherein gezwungen sind, mit Milligrammen zu messen.

Busson und Takahashi haben also zu Unrecht behauptet, daß der Komplementschwund nicht regelmäßig eintritt, und damit ist ihr einziger Beweis gegen eine primäre, ursächliche Beteiligung des Komplements widerlegt. Wenn die Autoren auch jetzt noch ihre irrige Meinung festhalten, und immer noch ihre Einwände als „experimentell ausreichend fundiert“ ansehen, so dürften ihnen die folgenden Argumente in ihrem Zusammenhang unbekannt geblieben oder von ihnen übersehen worden sein, die für eine Mitbeteiligung des Komplementes sprechen.



1) Da bei der Anaphylaxie Eiweiß und Antieiß unter Gegenwart von Komplement zusammentreffen, so ist eine Beteiligung des Komplementes bei der Reaktion unerlässlich.

2) Diese Komplementbeteiligung läßt sich auch bereits mit Einsetzen der Symptome bei der Anaphylaxie deutlich nachweisen; bei geeigneter Technik auch in jenen Fällen, in denen sie bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung nicht deutlich hervortritt.

3) Für eine Mitbeteiligung des Komplements spricht die Tatsache, daß alle jene Eingriffe die erfahrungsgemäß eine Komplementverminderung bedingen oder die Wirkung des Komplements abschwächen, auch einen relativen Schutz bei der Anaphylaxie bedingen.

Bezüglich dieser Punkte im einzelnen sei auf die Arbeit (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 19. Heft 4) verwiesen.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Bildung des Bakteriolysons durch Tuberkelbacillen und deren Gifte.

[Aus der Spezialklinik für Lungentuberkulose der medizinischen Akademie zu Osaka, Japan (Direktor Prof. A. Sata).]

Von Prof. extr. Dr. **R. Arima** und Dr. **Y. Sakamura**.

Der Fortschritt der Anaphylaxieuntersuchung und insbesondere die Erklärung Pfeiffers über Giftabbau lehrt uns, daß das Bakteriolyson eine wichtige Rolle auch bei der passiven Immunisierung spielt, während ihm früher nur ein diagnostischer Wert zugesprochen wurde. Unser Lehrer, Herr Prof. A. Sata, hatte 1911 bestätigt, daß man bei den großen Tieren (Pferd, Rind, Esel und Ziege) sowohl mit lebenden, als auch abgetöteten Tuberkelbacillen, wie auch mit Tuberkelbacillengift (Alttuberkulin) wirksame Sera erzielen kann. Im vorigen Jahre berichteten Kraus und Hofer, daß in der Peritonealhöhle des mit lebenden Tuberkelbacillen vorbehandelten Meerschweinchens die später eingespritzten Tuberkelbacillen das Bild der Bakteriolyse zeigen.

Im Anschluß an die Arbeit von Herrn Prof. Sata haben wir eine Untersuchung in der Art des Pfeifferschen Phänomens über die Bildung des Bakteriolysons gegen Tuberkelbacillen angefangen.

20 Meerschweinchen von etwa 300,0 g Körpergewicht wurden mit 0,1 mg lebenden Tuberkelbacillen (Gruppe A), 20 andere mit 5,0 mg 30 Minuten bei 70° C abgetöteten (Gruppe B), 20 weitere mit 1,0 ccm Alttuberkulin (Gruppe T) subkutan eingespritzt. Von der 1.—6. Woche nach der Vorbehandlung wurden je 2 von jener Gruppe und 2 gesunde zur Untersuchung herangezogen. Es wurden 2,0 mg lebende Tuberkelbacillen, fein verrieben, in 2,0 ccm Kochsalzlösung suspendiert, intraperitoneal eingespritzt und nach 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 und 90 Minuten bis zu 48 Stunden in kapillarer Peritonealflüssigkeit auf den Objektträgern schnell getrocknet (!) (langsames Trocknen in gewöhnlicher Zimmertemperatur ändert das Bild, besonders die Gestalt und die Färbbarkeit der Zellen), mit 0,2-proz. Sublimatlösung gehärtet, nach der Methode von Ziehl-Neelsen gefärbt und dann mikroskopisch untersucht.

Ueber 7 Wochen konnte ein Teil der mit lebenden Bacillen vorbehandelten Meerschweinchen nicht mehr überleben, so daß wir mit den übrigen wegen ihrer Schwächlichkeit die Versuche nicht fortsetzen konnten.

Der Kürze halber geben wir hier nur beispielsweise den Befund bei einem mit lebenden Bacillen vorbehandelten Meerschweinchen nach 3 Wochen, aus welchem wir am deutlichsten das bakteriolytische Phänomen neben allen anderen Vorgängen ersehen konnten.

Meerschweinchen A 5.

3 Wochen nach der subkutanen Injektion mit 0,1 mg lebender Tuberkelbacillen 2,0 mg frischer Tuberkelbacillenkultur in 2,0 ccm Kochsalzlösung intraperitoneal.

5 Minuten: Eine Unzahl von Tuberkelbacillen und mononukleäre Leukocyten.

15 Minuten: Zahlreiche Tuberkelbacillen, vereinzelte Phagocytose und mononukleäre Leukocyten.

30 Minuten: Tuberkelbacillen in vereinzelt Zellen und mononukleäre Leukocyten.

45 Minuten: Tuberkelbacillen in sehr verminderter Zahl intra- und extracellulär und mononukleäre Leukocyten.

60 Minuten: Normale und granuliert, verkrümmte Tuberkelbacillen in und außer den Leukocyten, mononukleäre und vereinzelte polynukleäre Leukocyten.

90 Minuten: Nur vereinzelte extracelluläre und an Zahl etwas überwiegende intracelluläre Tuberkelbacillen, viele polynukleäre Leukocyten unter mononukleären.

2 Stunden: Hauptsächlich intracelluläre und ganz vereinzelte Tuberkelbacillen mit verminderter Färbbarkeit zwischen den Zellen, zahlreiche polynukleäre und weniger mononukleäre Leukocyten.

3 Stunden: Nur phagocytierte Tuberkelbacillen, zahlreiche polynukleäre, vereinzelte mononukleäre Leukocyten und wenige, abgestoßene Endothelzellen.

4 und 6 Stunden: Wie etwa in voriger Stunde.

9.—48. Stunde: In dieser Zeit tritt ein anderes Bild auf. Die phagocytierten Tuberkelbacillen scheinen sich mit der Zeit zu vermehren. Die Phagocyten, in welchen die Tuberkelbacillen stark zugenommen haben, brechen manchmal auseinander (Phagolyse) und machen so die eingeschlossenen Tuberkelbacillen frei. Wir konnten oft wie agglutiniert aussehende, in Gruppen liegende Bacillenhäufchen in sonst ganz bakterienfreiem, extracellulärem Medium und daneben ein anderes Mal eine Leukocytenanhäufung beobachten, welche in ihrem Zentrum ein solches Bacillenhäufchen besitzt und schon teilweise in der Nähe der Bacillen zu degenerieren anfängt, wie wir es bekanntlich bei jungen Tuberkeln sehen.

Bei den mit abgetöteten Tuberkelbacillen sowie mit Alttuberkulin vorbehandelten Tieren sind keine großen Unterschiede bemerkbar.

Bei gesunden, nicht vorbehandelten Tieren verschwinden die intraperitoneal injizierten Tuberkelbacillen oft nach mehreren Stunden, wie Markl, Kraus und Hofer es beschrieben haben (Deutsche med. Wochenschr. 1912. No. 26). Andererseits sind wir jedoch auf eine Tatsache gestoßen, die uns zwingt, dieses Zurücktreten der Bacillen aus dem Peritonealexsudat nicht als Bakteriolyse betrachten zu können. Die

angewandte Kultur war nämlich ziemlich stark virulent, und es können mehrere Stücke von Bacillen bei Meerschweinchen pathologisch-anatomische Tuberkulose hervorrufen (Kawakita, Versammlung d. japan. patholog. Gesellsch. 3. Tagung 1913). Aus dieser Tatsache geht hervor, daß die Verminderung der Tuberkelbacillen hier auf keine echte Bakteriolyse hinweist, sondern daß die Bacillen ein geschütztes Obdach finden, und daß die betreffende Erscheinung mit der intraperitonealen Bakteriolyse nichts zu tun hat.

Joseph Koch hat vor einigen Jahren mitgeteilt, daß das Omentum majus ein Resorptionsorgan ist, welches die fremden, in die Peritonealhöhle eingedrungenen, geformten Körper, wie z. B. Bakterien, weg-schaffen kann, wie dies früher von den ungeformten bekannt war. Wir wissen auch, daß das große Netz stets intensivere pathologische Veränderungen zeigt, wenn wir die Tiere intraperitoneal mit Tuberkelbacillen infizieren.

Wir haben den Versuchstieren das Netz operativ möglichst entfernt und nach der Heilung der Wunde die obigen Versuche wiederholt.

Auch hier konnten wir eine deutliche Bildung von Bakteriolytin gegen Tuberkelbacillen durch oben genanntes Material mit Sicherheit nachweisen. Bei den sowohl mit lebenden als auch mit abgetöteten Tuberkelbacillen sowie mit Tuberkulin vorbehandelten, netzlosen Meerschweinchen zeigt sich ein viel deutlicheres und schnelleres Verschwinden der intraperitoneal eingespritzten, lebenden Tuberkelbacillen, als bei den gesunden, netzlosen.

Die Resultate dieser Arbeit sind kurz folgende:

1) In der Bauchhöhle der sowohl mit lebenden als auch mit abgetöteten Tuberkelbacillen sowie mit Alttuberkulin vorbehandelten Meerschweinchen konnten wir die bekannte Bakteriolyse viel deutlicher beobachten, als in der der nicht vorbehandelten. Das Bakteriolytin gegen Tuberkelbacillen wird daher nicht bloß durch die lebenden, sondern auch durch die abgetöteten Bacillen sowie durch die Giftsubstanz derselben (Alttuberkulin) erzeugt; das gleiche hat schon Herr Prof. A. Sata bei der komplementbindenden Substanz sowie mit der anaphylatoxinerzeugenden Wirkung bestätigt.

2) Bei der Ueberimpfung der Tuberkelbacillen findet stets lebhaftere Phagocytose statt, gleichgültig ob die Versuchstiere vorbehandelt sind oder nicht. 1½—2 Stunden nach der Bacilleninjektion tritt eine lebhaftere Auswanderung der polynukleären Leukocyten (neutrophilen Zellen) auf, und diese Leukocyten bleiben mehrere Tage danach noch in der Bauchhöhle.

3) Während die eingespritzten Tuberkelbacillen außerhalb der Leukocyten rasch zugrunde gehen, verändern sie in den Leukocyten, besonders in den oben genannten neutrophilen Zellen, weder ihre Gestalt, noch auch ihre Eigenschaften Farbstoffen gegenüber. Die phagocytierten Tuberkelbacillen gehen später in den Leukocyten nicht zugrunde, sondern sie scheinen sich in den Zellleibern allmählich zu vermehren, so daß man die bekannten Phagocyten nicht als Fresszellen betrachten kann,

sondern als eine für die Tuberkelbacillen wohltätige Einrichtung, welche den von Schutz- oder bakterizider Substanz angegriffenen Bakterien ein Obdach gewähren und sie unter Umständen in sich vermehren lassen.

4) Der größte Teil der eingespritzten Tuberkelbacillen verschwindet jedoch nicht nur in dem Peritonealexsudate (außerhalb der Phagocyten) der vorbehandelten Tiere, sondern auch in den der nicht vorbehandelten schon nach wenigen Stunden. Es handelt sich hier aber um keine Bakteriolyse, sondern um einen Transport, der hauptsächlich durch das große Netz verrichtet wird.

*Nachdruck verboten.*

## Erfahrungen mit dem Conradischen Pentan-Oelstäbchenverfahren zur Diphtherieanreicherung.

[Aus der Bakteriolog. Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses Berlin (Leiter: Dr. H. Liefmann).]

Von Dr. Georg Orkin.

Die genauen technischen Angaben über die Methode finden sich in der München. med. Wochenschr. 1913. H. 20. Es kamen im ganzen bei unserer Nachprüfung 276 Fälle zur Untersuchung, welche ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Jochmann verdanke. Die Kontrolluntersuchungen auf der gewöhnlichen Loeffler-Platte wurden von dem Assistenzarzt der Diphtherie-Abteilung, Herrn Dr. Grundmann, ausgeführt, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen Dank aussprechen möchte. Bemerken muß ich, daß etwa bei den ersten 100 Fällen die Kontrolluntersuchungen an Abstrichen vom Abend vorher gemacht wurden, bei den übrigen Fällen wurden von jedem zwei Abstriche gemacht und einer davon zur Kontrolluntersuchung verwandt. Es hat sich dadurch kein Unterschied im Prozentsatz der positiven und negativen Ergebnisse feststellen lassen.

Bei den ersten 100 Fällen etwa wurde zur Anreicherung Petroläther, bei den übrigen Pentan verwandt. Auch hier ergab sich kein Unterschied.

Es wurde genau nach den Angaben Conradis gearbeitet, nur wurde nachher nicht auf Tellurplatten ausgestrichen, sondern, ebenso wie bei den Kontrollen, auf gewöhnlichen Loeffler-Platten.

Die Ergebnisse sind folgende:

Uebereinstimmend negativ waren 186 Fälle

	positiv	35	"
Nur nach Conradis	positiv	20	"
Loeffler		35	"

Ich kann also leider die guten Resultate Conradis nicht bestätigen — bestätigen kann ich, daß ich sehr häufig Reinkulturen von Diphtherie oder fast sterile Platten bekam, wo dies bei den Kontrollen nicht der Fall war. Allerdings bekam ich auch oft Reinkulturen von Staphylokokken.

Um näheren Aufschluß über dieses anscheinend regellose Ergebnis zu bekommen, bei welchem die immerhin stattliche Zahl von 20 Fällen nach Conradi positiv bei negativer Kontrolle gefunden wurde, habe ich dann noch 18 Versuche angestellt, derart, daß ich bestimmte Bakterienarten in 1 ccm Kochsalzlösung aufschwemmte und dann nach der Conradischen Methode behandelte.

Ich führe diese Fälle an:

Angesetzt	Ergebnis
1) Di + Staph. albus	Reinkultur von Staph. albus
2) Staph. aureus	Reinkultur von Staph. aureus
3) Staph. albus	Nihil
4) Strept. + Di	Nihil
5) Staph. albus + Di	Staph. albus
6) Staph. aureus + Strept. + Di	Reinkultur von Staph. aureus
7) Pseudodiphtherie	Ueppiges Wachstum von Pseudodiphth.
8) Pseudodiphth. + Strept. + Di	Reinkultur von Pseudodiphtherie
9) Pseudodiphth. + Staph. albus	Pseudodiphth. + Staph. albus
10) Di + Staph. albus	Staph. albus
11) Strept. + Di I	Strept.
12) Pseudodiphth. + Di I	Di + Pseudodiphth.
13) Staph. albus + Di I	Staph. albus
14) Staph. albus + Di II	Staph. albus
15) Staph. albus + Di I + Di II	Staph. albus + Di
16) Di III + Staph. albus	Di + Staph. albus
17) Di IV + Staph. aureus	Staph. aureus
18) Di V + Staph. albus	Di + Staph. albus

Bei den ersten 10 Fällen nahm ich von jeder Bakterienart 1 Oese zur Aufschwemmung, bei den letzten, nachdem ich gar keine Diphtherie auf die Platten bekommen hatte, von den übrigen Bakterienarten nur ganz geringe Mengen. Aber auch so bekam ich durchaus die Diphtheriebacillen nicht immer wieder heraus.

Man konnte eventuell noch annehmen, daß verschiedene Diphtheriestämme in der Beschaffenheit ihrer Bakterienhüllen sich verschieden verhielten, so daß also eventuell nur bestimmte Diphtheriestämme angereichert wurden. Aber auch dagegen sprechen die wechselnden Resultate mit dem Di-Stamm I.

Man muß also wohl annehmen, daß bei diesem Verfahren der Zufall eine gar zu große Rolle spielt.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Verwertung der Konglutinationsreaktion als diagnostische Probe beim Rotz.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Versuchslaboratoriums der  
königl. tierärztlichen und landwirtschaftlichen Hochschule zu Kopen-  
hagen (Vorstand: Prof. Dr. med. B. Bang).]

Von Assistent Tierarzt C. W. Andersen.

Mischt man inaktiviertes Rindereserum (auf 56° erwärmt), frisches Pferdeserum und in physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschene und aufgeschwemmte Meerschweinchenblutkörperchen zusammen, so werden sich nach einigen Minuten die roten Blutkörperchen zusammenballen und zu Boden sinken, und nach kurzer Zeit wird eine mehr oder minder vollständige Hämolyse eintreten. Dies wurde, jedenfalls was die Hämolyse betrifft, zum ersten Male von Ehrlich und Sachs beobachtet.

Die Ursache dieser Erscheinung, nach der namentlich Bordet und Gay geforscht haben, hat sich als eine ziemlich komplizierte ergeben. Das Rindereserum enthält nämlich nach den Untersuchungen dieser Autoren einen kolloidalen Stoff (Konglutinin), der selbst in ganz kleinen Mengen äußerst aktiv ist. Dieser Stoff vermag jedoch erst auf die Blutkörperchen zu wirken, wenn sie zuvor mit einem angemessenen Ambozeptor (Sensibilisator) und Komplement (Alexin) in Kontakt gekommen sind.

Unter Ambozeptoren versteht man bekanntlich gewisse thermostabile Stoffe in Seren, die bei Versetzung mit Blutkörperchen oder Bakterien imstande sind, einen Komplex zu bilden, der dadurch das Vermögen gewinnt, gewisse andere Stoffe (Komplement, Alexin) im Serum zu binden.

Das Komplement wird im Gegensatz zu dem Ambozeptor bei Erwärmung auf 56° zerstört.

Wenn man in dem angeführten Gemisch (Meerschweinchenblutkörperchen, inaktiviertes Rindereserum, frisches Pferdeserum) das Pferdeserum erwärmt, wird weder Zusammenballung der Blutkörperchen noch Hämolyse stattfinden. Es wird gleichfalls keine Hämolyse noch Zusammenballung stattfinden, wenn das Komplement gebunden wird, was sich leicht durch Zusatz eines Antigens (z. B. Rotzbacillen) und antistoffhaltigen Serums von einem rotzigen Pferde bewerkstelligen läßt.

Dies vom Konglutinin hervorgerufene Zusammenballen von Blutkörperchen schlägt Bordet vor. Konglutination zu nennen, und er behauptet, daß sie sich von der einfachen Agglutination unterscheidet, indem das Konglutinin im Gegensatz zu den Agglutininen nur bei Vorhandensein von Komplement wirken kann.

Streng fand, daß Bakterien sich in derselben Weise wie Blutkörperchen konglutinieren lassen.

In Ehrlichs ursprünglichem Versuch wurde namentlich auf die Hämolyse Gewicht gelegt; Bordet hob dagegen hervor, daß erst ein Zusammenballen der Blutkörperchen und dann eine Hämolyse derselben statfinde. Wenn man mit kleinen Mengen von Pferdeserum und Rindereserum arbeitet, wird nur ein Zusammenballen stattfinden, das sich da-

durch zu erkennen gibt, daß die Blutkörperchen sich als zusammenhängendes, dünnes, rotes Häutchen an Boden und Seiten des Glases ablagern und trotz Schüttelns zusammen bleiben; Hämolyse tritt aber nicht ein. In dieser Form ist die Methode als diagnostisches Mittel verwertet worden.

Als solches haben Streng, Karvonen, Hecht und Luger die Methode bei der Syphilis versucht.

Pfeiler und Weber sind die ersten, welche die Konglutationsmethode beim Rotz praktisch verwerteten. In ihren beiden Aufsätzen, die übrigens nichts Näheres über die Technik enthalten, kommen sie zu dem Resultat, daß die Reaktion feiner und genauer ist als die der Komplementbindung.

Da im Sommer 1913 in Dänemark einige Rotzfälle vorkamen, die Komplementbindungsuntersuchungen an einer Menge von Pferden veranlaßten, erhielt ich in der Weise ein großes Material, das ich, nachdem ich mir erst eine Technik ausgearbeitet hatte, gleichzeitig mit den gewöhnlichen Komplementbindungsuntersuchungen der Konglutationsreaktion unterwarf.

Wie ich die Konglutationsreaktion anwendete, ist sie eigentlich eine Kombination von Komplementbindung und Konglutination, indem zu einer Mischung von Rotzbacillen, inaktiviertem Serum eines rotzigen oder rotzverdächtigen Pferdes und frischem Pferdeserum inaktiviertes Rinderserum und Ziegenblutkörperchen gesetzt wurden. Ist das Pferd rotzig, wird das Komplement an den Komplex Antigen + antistoffhaltiges Serum gebunden; es wird in dem Falle keine Konglutination eintreten, indem die eine der Bedingungen für das Zustandekommen einer Konglutination das Vorhandensein von freiem Komplement ist. Ist das Pferd nicht rotzig, wird das Komplement nicht gebunden, und es wird also Konglutination eintreten.

Als Antigen benutzte ich wesentlich eine Aufschwemmung von Rotzbacillen in physiologischer Kochsalzlösung (25 Reagenzglaskulturen, durch 2-stündige Erwärmung auf 65° abgetötet, 1000 g physiologische Kochsalzlösung).

Die Ziegenblutaufschwemmung wurde hergestellt, indem 10 g defibriniertes Blut in physiologischer Kochsalzlösung 3mal zentrifugiert und ausgewaschen und dann in 150 g physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden.

Als Hauptresultat einer großen Anzahl von Titrierungen, die darauf abzielten, die angemessenste Menge der verschiedenen ins System eingehenden Faktoren zu bestimmen, fand ich, daß die Reaktion am schnellsten und sichersten verlief bei Anwendung von 0,05 ccm Antigen, 0,04 ccm inaktiviertem Rinderserum, 0,1 ccm Pferdeserum (Komplement) und 0,5 ccm Ziegenblutaufschwemmung, bis zu einer Flüssigkeitsmenge von 2,5 ccm pro Glas mit physiologischem Kochsalz gemischt.

Das zu untersuchende Serum wurde inaktiviert und in abnehmenden Dosen von 0,1—0,001 ccm angewandt. Die Mischung von Antigen, Komplement und inaktiviertem Pferdeserum wurde  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 37° aufs Wasserbad gestellt, wonach das inaktivierte Rinderserum und die Ziegenblutaufschwemmung zugesetzt wurden. Die Reaktion konnte bereits nach ca. 1 Stunde abgelesen werden und hielt sich mehrere Tage. Wie wenig Komplement notwendig ist, ersieht man daraus, daß bei 32 ge-



sunden<sup>1)</sup> Pferden die Konglutination auch bei Anwendung von 0,02 ccm komplementhaltigem Pferdeserum eintrat.

Bei 4 Pferden, die ca. 6 Wochen vor der Blutentnahme mit einem rotzigen Pferde transportiert worden und in demselben Stall angebracht gewesen waren, fand ich, daß das Serum von 3 davon bei Anwendung von 0,05 ccm Komplement die Konglutination hinderte, während eine solche bei 0,1 ccm zustande kam. Bei der Malleinprobe (subkutane Injektion) ergaben 2 auch einige Temperatursteigerung (37,8 auf 39,5—39,3 und 37,6 auf 39,0—39,0—39,0°), während die Temperatur bei den beiden anderen um 37,5° konstant blieb. Die Komplementbindungsreaktion war bei allen 4 negativ. Da man wohl davon ausgehen darf, daß keins von den 4 Pferden in dem Sinne Rotz hatte, daß man durch Sektion hätte die Rotzprozesse nachweisen können, wenn man auch die Möglichkeit nicht ausschließen kann, daß sie Rotzbacillen können aufgenommen haben, ohne daß diese angeschlagen hätten, so zeigt der Versuch, daß man keinen geringeren Komplementtiter als 0,1 ccm anwenden sollte.

In betreff der Frage, wie viel Komplement Antigen + antistoffhaltiges Serum binden kann, fand ich bei 7 rotzigen Pferden, daß bei Anwendung von 0,15 ccm keine Konglutination eintrat, und daß eine solche erst bei Dosen von 0,2 ccm teilweise eintrat; bei 2 anderen rotzigen Pferden waren die Dosen 0,2 und 0,25 ccm. Diese Zahlen setzen natürlich voraus, daß die anderen Faktoren des Systems konstant bleiben; verschieben diese sich, so verschiebt sich auch der Komplementtiter. Im ganzen habe ich die Konglutinationsreaktion bei Untersuchungen von 225 Blutproben angewandt. Davon ergaben 14 positive Reaktion, 10 sogar in Dosen von 0,001 ccm, 2 in Dosen von 0,005 ccm und 2 in Dosen von 0,01 ccm, was 10mal weniger Serummenge ist, als die Komplementbindungsmethode erfordert.

Bei 13 von den Pferden, die positiv reagiert hatten, fanden sich typische Rotzprozesse; bei einem Pferd nur zwei ältere Knötchen in der Lunge, ohne daß bestimmt zu entscheiden war, ob Rotz vorlag oder nicht. Das Pferd war einer Rotzinfektion ausgesetzt gewesen, wies stark positive Komplementbindungsreaktion auf und reagierte bei subkutaner Malleininjektion mit folgenden Temperaturen: vor der Injektion 37,8, nach 10 Stunden 40,8, nach 12 Stunden 41,0, nach 15 Stunden 40,9, nach 18 Stunden 40,6, nach 20 Stunden 40,5, nach 22 Stunden 40,7°. Das Allgemeinbefinden war schlecht.

4 Proben ergaben bei der Komplementbindungsmethode partielle Bindung 0,2, während die Konglutinationsreaktion vollkommen negativ war. Bei der Malleininjektion wies eines der Pferde keine Spur von Temperatursteigerung auf. An der Einstellung des Komplementbindungssystems, die bisher bei Rotz angewandt wurde, hat es sich mehrmals gezeigt, daß man auf die ab und zu auftretenden partiellen Bindungen nicht zu viel Gewicht legen darf, denn die Erfahrung zeigt, daß sie meist nicht-spezifischer Natur sind; andererseits wirken sie recht genierend, indem sie ganz natürlich Zweifel erregen.

1) Gesund heißt, daß die Pferde, insofern man davon wissen konnte, keiner Rotzinfektion ausgesetzt gewesen waren, und daß ihre Temperatur nach der Malleininjektion normal war.

Eine Probe ergab negative Konglutinations- und Komplementbindungsreaktion, während das Pferd bei subkutaner Malleinprobe reagierte. Es stellte sich aber heraus, daß das Pferd Piphas an beiden Beinen hatte, und daß dies Leiden am Injektionstage in Suppuration zu treten angefangen hatte, was wahrscheinlich die Temperatursteigerung veranlaßte.

201 Blutproben ergaben negative Konglutinations- und Komplementbindungsreaktion; 131 davon wurde Mallein injiziert — allen mit negativem Resultat.

Als Antigen wurde außer Rotzbacillen teils Mallein, teils eine Lösung von Rotzbacillen in Antiformin versucht (die Lösung wird mit 5-proz. Schwefelsäure neutralisiert). Beides läßt sich bei der Konglutationsreaktion ausgezeichnet anwenden, sogar nach Filtration durch Berkefelds Filter, nicht aber bei der Komplementbindungsreaktion. Hier gaben nämlich von 20 Rotzseren nur 2 partielle Bindung mit filtrierter Rotzbacillenantiforminlösung, während die übrigen Hämolyse ergaben. Gleichzeitig ergaben Seren von gesunden Pferden, denen Mallein injiziert worden war, Bindung mit diesen Antigenen, obschon der Bindungswert mehrerer dieser Seren bedeutend niedriger war als der der gesunden. Ich habe dies Verhältnis an 10 Pferden untersucht und kam bei allen zu demselben Resultat. Diese Eigenschaft des filtrierten Antigens scheint also unter gewissen Verhältnissen zur Differenzierung rotziger und „malleinisierten“ Seren benutzt werden zu können.

Bei der Konglutationsreaktion ergibt das Blutserum von gesunden Tieren, denen Mallein injiziert worden ist, wie bei der Komplementbindungsreaktion positive Reaktion, so daß die beiden Reaktionen sich also in dieser Beziehung entsprechen.

Die Konglutationsreaktion ist absolut empfindlicher und scheint auch gegenüber Rotz spezifischer zu sein als die Komplementbindungsreaktion.

Die Komplementbindungsmethode hat hier in Dänemark bei der Untersuchung von 1200 Blutproben von gesunden und rotzverdächtigen Pferden recht zufriedenstellend gearbeitet, indem sie nur ein einziges Mal unvollständige Bindung 0,2 mit einem Serum eines rotzigen Pferdes ergeben hat, das zugleich an der Druse litt; als die Blutentnahme stattfand, war das Pferd sehr mitgenommen; das Serum war bei der Untersuchung hämolytisch und voll von wachsenden Bacillen. Die Malleinreaktion war vollkommen negativ. Das Pferd starb nach einigen Tagen, und es wurde an der ans Laboratorium eingesandten Nasenscheidewand Rotz festgestellt. Andererseits ergab die Komplementbindungsreaktion in verschiedenen Fällen ein negatives Resultat, während die Malleinreaktionen positiv waren und sich bei der Sektion keine Spur von Rotz fand.

Obgleich die Resultate der Komplementbindungsreaktion also recht gut zu sein scheinen, betrachte ich doch die Einführung der Konglutationsreaktion als eine wertvolle Vermehrung der serodiagnostischen Methoden, über die wir bei der Rotzbekämpfung verfügen.

**Literatur.**

- Ehrlich und Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1902.  
 Bordet et Gay, Sur les relations des sensibilités avec l'alexine. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 25.)  
 Bordet et Streng, Les phénomènes d'adsorption et la congutinine du sérum de bœuf. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49.)  
 Streng, Studien über das Verhalten des Rinderserums gegenüber den Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50.)  
 Spät, Ueber Agglutinationsversuche mit normalem Rinderserum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54.)  
 Hecht, Konglutinationsreaktionen nach Karvonen. (Berl. klin. Wochenschr. 1912.)  
 Luger, Zur Verwertbarkeit der Konglutinationsreaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65.)  
 Pfeiler und Weber, Versuch einer neuen serodiagnoetischen Methode bei der Rotzkrankheit. (Berl. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 28. 1912. No. 43.)  
 — — Vergleichende Untersuchungen der Sera von 100 Pferden etc. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 12. 1912.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Brauchbarkeit der porösen Tondeckel für Bakterienkulturschalen.

[Aus der hygienisch-bakteriologischen Abteilung bei der Kaiser Wilhelms-Akademie (Vorstand Stabsarzt Dr. W. Fornet).]

Von Stabsarzt Dr. Aumann, Berlin.

Die Annahme, daß noch jeder, der überhaupt bakteriologisch gearbeitet, den Mangel eines brauchbaren Plattentrockners recht häufig unangenehm empfunden hat, besteht sicherlich zu Recht. Selbst in Instituten, die durch ständiges, reichliches Untersuchungsmaterial gezwungen sind, stets einen Vorrat an getrockneten gebrauchsfertigen Kulturplatten jeder Art bereitzuhalten, wird man sich bei unerwartetem Eingang von gehäuften Untersuchungsmaterial der mehr oder weniger unliebsam empfundenen Zwangslage nicht entziehen können, die in Angriff genommenen Arbeiten zu unterbrechen und nun zu warten, bis die frisch gegossenen Platten gebrauchsfertig sind.

„Die Agarplatten müssen, ehe sie geimpft werden, eine halbe Stunde bei 37° im Brutschrank mit der Fläche nach unten offen gehalten werden“, heißt es in der „Anleitung für die bakteriologische Feststellung der Cholerafälle.“ Welche Unzuträglichkeiten sich hierdurch bei dem bakteriologischen Arbeiten ergeben, wird jeder ermessen können, der einmal gezwungen war, auf einem sehr beschränkten Raum mit recht beschränkten Mitteln in kurzer Zeit eine große Zahl von Untersuchungen zu bewältigen.

Ich jedenfalls habe diesen Uebelstand während meiner Tätigkeit bei der Cholera bekämpfung in Serbien nur zu häufig empfunden. Denn gerade für „fliegende Laboratorien“ ist doch die Vermeidung jeglichen Zeitverlustes von unschätzbarem Vorteil.

Es ist danach nur schwer verständlich, woher es kommt, daß die amerikanischen porösen Tondeckel bis jetzt bei uns keinen Eingang gefunden haben. Daß tatsächlich das Bedürfnis nach Plattentrocknern

besteht, zeigen die Mitteilung von Reiner Müller<sup>1)</sup>, der Blechdeckel mit Gipsschicht empfiehlt und sie bereits seit Jahren im Kieler bakteriologischen Untersuchungsamte eingeführt hat, sowie die Angabe von Conradi und Troch<sup>2)</sup>, die sich durch das Einlegen von Fließpapier in die Glasdeckel helfen.

Auf Veranlassung von Geheimrat Gärtner wurden schließlich im hygienischen Institute der Universität Jena Versuche mit Tondeckeln für Petrischalen gemacht. Ueber das Ergebnis, das mit den von der Tonwarenfirma Ebersteins Nachfolger, Inhaber Max Hohenstein in Bürgel in Thüringen in den Handel gebrachten Tondeckel gewonnen wurde, berichtet Klunker<sup>3)</sup>, der mitteilt, daß die Versuche durchaus befriedigend ausgefallen seien. Der Nährboden erstarrt schnell und gleichmäßig, die Oberfläche ist glatt und infolge des Fehlens von Kondenswasser vollständig trocken. Ein Offenstehenlassen der frischgegossenen Nährböden ist bei Benutzung der Tondeckel nicht notwendig.

Die an der hygienisch-bakteriologischen Abteilung bei der Kaiser Wilhelms-Akademie angestellten Versuche konnten diese Ergebnisse nur bestätigen.

Jeder Zeitverlust wird vermieden. Sobald die letzte Platte gegossen ist, ist die erste bereits wieder gebrauchsfertig. Als weiterer Vorteil muß zudem hervorgehoben werden, daß es durch die beständige Aufsaugung des Kondenswassers ermöglicht wird, die beschickten Platten mit dem Deckel nach oben zu bebrüten, wodurch die Uebelstände, wie sie in erster Linie bei Verwendung von Serumagarplatten infolge von Verflüssigung des Nährboden auftreten können, vermieden werden.

Die bakterienreiche, verflüssigte Masse sammelt sich nicht mehr im Deckel an, und die Gefahr einer Infektion durch Uebertragung durch die Hände beim Öffnen der Schalen wird dadurch ausgeschaltet.

Als Nachteil der Tondeckel ist vielleicht zu erwähnen, daß zur Betrachtung etwaigen Wachstums der Deckel stets abgehoben werden muß. Jedoch kann dieser Punkt angesichts der übrigen Vorteile nicht besonders ins Gewicht fallen.

Während die ersten gelieferten Tondeckel sehr zerbrechlich waren, werden sie jetzt bedeutend stärker angefertigt, so daß ihre Haltbarkeit sicherlich ebenso groß angenommen werden darf, wie die von Glasdeckeln. Reinigen und Sterilisieren vertragen sie gut, so daß man sie auch ungeübtem Personal ruhig in die Hand geben kann.

Die Conradi-Trochschen „Plattetrockner“ haben nach Klunker „keine ganz befriedigenden Resultate“ ergeben. Die von R. Müller angegebenen Deckel werden nicht fertig geliefert, die Gipsschicht muß vielmehr im Laboratorium gegossen werden. Beide Methoden mögen sich immerhin in stehenden Laboratorien bewähren.

Aber gerade für tragbare Laboratorien und ähnliche Einrichtungen kann ich die Einführung der porösen Tondeckel nur empfehlen.

1) Münch. med. Wochenschr. 1913. p. 1548.

2) Münch. med. Wochenschr. 1912. p. 1652.

3) Münch. med. Wochenschr. 1913. p. 1027.

## Inhalt.

- Andersen, C. W.**, Ueber die Verwertung der Konglutationsreaktion als diagnostische Probe beim Rotz, p. 394.
- Arima, R. u. Sakamura, Y.**, Ueber die Bildung des Bakteriolyins durch Tuberkelbacillen und deren Gifte, p. 389.
- Aumann**, Ueber die Brauchbarkeit der porösen Tondeckel für Bakterienkulturschalen, p. 398.
- Bertani, Michele**, Beitrag zur Kenntnis der säurefesten, im Kote einiger Wirbeltiere anzutreffenden Bacillen, p. 270.
- Citron, Heinrich**, Ueber experimentell erzeugtes Magensarkom bei der Ratte, p. 328.
- Dunbar**, Nachruf, p. 257.
- Engelard, Otto**, Ueber Säurebildung der Staphylokokken aus Kohlenhydraten und hochwertigen Alkoholen. Staphylokokkenmutation auf Brechweinsteinagar, p. 260.
- Friedberger, E. u. Cederberg, O. A.**, Der Komplementschwund und seine Beziehungen zur Anaphylaxie, p. 385.
- Katsurada, F.**, Schistosomiasis japonica, p. 363.
- Koenigsfeld, Harry**, Beobachtungen und Studien über die Metastasenbildung beim Mäusekrebs, p. 335.
- Leon, H.**, Notes de Parasitologie, p. 380.
- Orkin, Georg**, Erfahrungen mit dem Conradischen Pentan-Oelstäbchenverfahren zur Diphtherieanreicherung, p. 392.
- Rabinowitsch, Marcus**, Syphilis und Wassermannsche Reaktion bei den Findelsäuglingen, p. 344.
- Serena, Paul**, Ueber Hefen und Fungi imperfecti in pneumonischen Herden bei Haustieren und über Trichophytie der Lunge beim Kalbe, p. 273.
- Woloschin, A. D.**, Zur Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus im tierischen Organismus, p. 312.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---



---

**Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.**

---

Untersuchungen über Spezifität und andere Eigenschaften  
der Ektoproteasen.

Von Prof. Dr. Claudio Fermi,

Vorstand des Kgl. Hygienischen Institutes der Universität Sassari.

[Schluß.]

Kapitel XII.

**Stoffliche Einflüsse auf die einzelnen proteolytischen Vermögen.**

Ein weiterer Weg, um die einzelnen proteolytischen Vermögen zu trennen, dürfte in der Anwendung verschiedener Chemikalien bestehen. Schon in einer älteren Arbeit<sup>1)</sup> veröffentlichte ich mehrere Versuche über diesen Gegenstand, welche unter anderem zu folgenden Schlüssen führten:

1) 1-proz. Essigsäure nimmt dem Trypsin das fibrinolytische Vermögen, stand Trypsin 48 Stunden in Berührung mit Essigsäure oder wirkte Trypsin auf Fibrin bei Gegenwart von Essigsäure ein. In beiden Fällen behielt Trypsin sein gelatinelösendes Vermögen bei.

2) Mit 5-proz. Phenol oder gesättigter Salicylsäure 48 Stunden behandeltes Trypsin greift Fibrin nicht mehr, Gelatine noch an.

3) 5-prom. HCl, 1-proz. HgCl<sub>2</sub>, 5-proz. Phenol, gesättigte Salicylsäure zerstören die fibrinolytische, aber nicht die gelatinolytische Wirkung des Enzyms von *Vibrio cholerae*, V. Finkler-Prior, *Bact. prodigiosum*, von Pepsin (unter Ausnahme von Salz- und Salicylsäure) und Trypsin.

4) In einer 50-proz. Sodalösung verliert Trypsin nach 6 Tagen das fibrinolytische, obwohl das gelatinolytische Vermögen noch erhalten bleibt.

5) Das Gleiche beobachteten wir nach 6-tägigem Verweilen des Trypsins in Thymol oder destilliertem Wasser.

Viele Jahre später fand Hattori, daß Natrium-, Ammon- und Bromchlorid das albumolytische, unter Schonung des gelatinolytischen, Vermögen im Trypsin vernichten. Er nimmt daher die Existenz einer spezifischen Glutininase an. Er teilt aber über eine eventuelle Zunahme der Eiweißunlöslichkeit oder der Gelatinelöslichkeit nichts mit. Die Erscheinung könnte auch auf Trypsinattenuation beruhen. Ich habe z. B. in dieser, wie in früheren Arbeiten gezeigt, daß Erwärmung das fibrino-, kaseino- und serolytische, unter Schonung des gelatinolytischen, Vermögen des Trypsins, resp. bei Pepsin das sero- und kaseinolytische, unter Schonung des fibrinolytischen, Vermögen vernichten kann; das Gegenteil konnte nie beobachtet werden.

Neue Untersuchungen wurden mit Trypsin, Pepsin, Papain und Bakterienenzymen ausgeführt.

1) Fermi, C., I fermenti peptici e diastatici dei microbii. (Giorn. d. R. Accad. di Med. 1890. No. 1—2.)

## 1. Versuche mit Trypsin und Pepsin.

4 Reagensgläser wurden mit 5 ccm 3-prom. Trypsin resp. 3-prom. Pepsin und 5 ccm der angegebenen Säuren und Salzlösungen beschickt, dann je eins wurde dem direkten Sonnenlichte (höchste Temperatur am Aktinometer 54—56° C) resp. dem gedämpften Sonnenlichte (gewöhnlicher Thermometer 37° C, Aktinometer 47° C) oder im Dunkeln bei einer Temperatur von 42° und 25—28° C ausgestellt. Nach 10 Tagen (etwa 50 Stunden bei Sonnenbelichtung) wurden die Präparate auf Gelatine und Fibrin geprüft:

	Dunkel, 25—28° C				Dunkel, 42° C				Sonnenlicht, 37—47° C				Sonnenlicht, 44—56° C			
	Trypsin		Pepsin		Trypsin		Pepsin		Trypsin		Pepsin		Trypsin		Pepsin	
	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin	Gelatine	Fibrin
Salzsäure	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0	+
Phosphorsäure	0	0	8	+	0	0	6	+	0	0	6	+	0	0	5	+
Milchsäure	5	0	8	+	2	0	8	+	0	0	5	+	0	0	3	+
Weinsäure	0	0	10	+	0	0	6	+	0	0	8,5	+	0	0	7	+
Oxalsäure	0	0	13	—	0	0	12	—	0	0	15	—	0	0	12	—
Essigsäure	3	0	7	+	2	0	6	+	2	0	7	+	0	0	6	+
Propionsäure	1	0	5	+	0,5	0	4	+	4	0	2,5	+	0	0	0	+
Buttersäure	9	0	4	+	4	0	4	+	1	0	2	+	0	0	0	+
Valeriansäure	11	0	0	+	1	0	0	+	2	0	0	+	0	0	0	+
Natriumkarbonat	9	+	.	.	7	+	.	.	3	—	.	.	1,5	0	.	.
Natriumchlorid	13	+	.	.	10	+	.	.	10	+	.	.	2,5	—	.	.
Wasser	8	+	.	.	3	—	.	.	2	—	.	.	1,5	0	.	.

Hauptergebnisse: 1) In keinem Falle war Trypsin auf Fibrin wirksam und auf Gelatine unwirksam.

2) Pepsin war bei Gegenwart von Phosphor-, Milch-, Wein- und Essigsäure auf Gelatine, nicht aber auf Fibrin wirksam; bei Gegenwart von Salz-, Propion-, Butter- und Valeriansäure war Pepsin auf Fibrin, nicht aber auf Gelatine wirksam. Dadurch wird nur gezeigt, daß diese Säuren die Gelatineverflüssigung verhindern, denn Pepsin löste noch schnell Gelatine nach Neutralisation derselben Säuren und Zusatz der übrigen Säuren.

Nebenergebnisse: 1) Trypsin wurde von Säuren stärker als von Kochsalz und Soda attenuiert.

2) Phosphor-, Salz-, Milch-, Oxal- und Weinsäure attenuierten Trypsin viel stärker als Propion-, Essig-, Butter- und Valeriansäure.

3) Kochsalz schützte Trypsin besser als Soda.

4) In reinem Wasser ging Trypsin schneller als bei Gegenwart von Kochsalz, Soda, Butter- und Valeriansäure zugrunde.

5) Pepsin wurde bei Gegenwart von Salz- und Valeriansäure schneller als bei Gegenwart von Phosphor-, Wein-, Milch- und Essigsäure zerstört.

6) Oxalsäure beförderte beim Pepsin die Gelatineverflüssigung und verhinderte die Fibrinolyse.

7) Mit Salz-, Propion-, Butter- und Valeriansäure behandeltes Pepsin war auch nach der Einwirkung direkten Sonnenlichtes auf Fibrin wirksam.

8) Bei höherer Temperatur und direktem Sonnenlichte war die Attenuation beider Enzyme stärker.



## 2. Versuche mit Trypsin und Papain.

Reagensgläser wurden mit 1 ccm 7-proz. Phenolgelatine, 0,5 ccm der Enzymlösung und 0,5 ccm der verschiedenen Säuren und Salzlösungen beschickt und bei 37° C bebrütet. Nach 48 Stunden wurden die Röhrchen in kaltes Wasser getaucht, um die Gelatine wieder erstarren zu lassen. Andererseits wurde ein Flocken Fibrin in 5 ccm Enzymlösung + 5 ccm der Säurelösung gelegt.

Die Schwefelwasserstoffproben wurden durch Einleiten von H<sub>2</sub>S in je 5 ccm der Enzymlösung + 5 ccm 2-proz. Phenols ausgeführt.

Die Versuche dauerten 5 Tage.

Pepsin und Papain verflüssigten Gelatine, aber kein Fibrin bei Gegenwart von Salz-, Salpeter-, Milch-, Aepfel-, Butter-, Ameisen-, Zitronen- und Essigsäure. Nur Schwefelwasserstoff hinderte die Fibrinverdauung durch Trypsin nicht.

## 3. Ueber die Beeinflussung des Trypsins durch verschiedene Salze.

Mit 5-proz. Soda alkalisch gemachtes, 3-proz. Phenoltrypsin erhielt Eiweißstoffwürfelchen und wurde mit Salzlösungen verschiedener Konzentration gemischt. Der Versuch dauerte 10 Tage bei 35° C.

	0,5-proz.				1-proz.				2-proz.				3-proz.			
	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
Strontiumnitrat	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Strontiumoxalat	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0
Strontiumlaktat	+	+	?	0	+	+	+	0	+	+	+	?	+	+	—	0
Strontiumacetat	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Calciumnitrat	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0
Calciumoxalat	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	+	0
Calciumlaktat	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	0	0	0
Calciumacetat	+	+	?	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	0
Kontrollen	+	+	0	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Ergebnisse: 1) Bei Gegenwart von keinem der acht geprüften Salze entfaltete Trypsin albumo- und serolytische Wirkung, ohne gleichzeitig auf Fibrin und Kasein einzuwirken.

2) Die geprüften Salze lassen sich nach folgender Reihe abnehmender Begünstigung der Trypsinwirkung anordnen:

- 1) Milchsäures Strontium.
- 2) Essigsäures Calcium.
- 3) Milchsäures Calcium.
- 4) Oxalsäures Calcium.
- 5) Oxalsäures Strontium.
- 6) Salpetersäures Calcium.
- 7) Salpetersäures Strontium.
- 8) Essigsäures Strontium.

Die letzteren zwei Salze hatten beide einen hemmenden Einfluß.

3) Pepton wurde in allen Proben mit Ausnahme beider letzteren nachgewiesen.

## 4. Versuche mit Pepsin.

Versuch I. 2 ccm 1-proz. Pepsin wurden mit 2 ccm der Salzlösung gemischt. Nach 48 Stunden wurde die Flüssigkeit mit 2-prom. Salzsäure im Verhältnis von 1:1000, 1:5000, 1:10000 verdünnt und auf die Eiweißkörper einwirken lassen. Der Zweck dieser Verdünnung erhellt aus der Tatsache, daß in der ursprünglichen Konzentration das zugesetzte Salz oft eine hemmende Wirkung hatte, welche bei größerer Verdünnung ausblieb. Die alkalischen Lösungen wurden vor der Verdünnung mit Weinsäure neutralisiert. Versuchsdauer: 10 Tage.

	1:1000					1:5000					1:10000				
	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
2-prom. Salzsäure	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+
20-proz. Natriumkarbonat	0	+	+	0	0	0	+	+	0	0	0	+	+	+	?
50-proz. Natriumkarbonat	0	+	?	0	0	0	+	?	0	0	0	+	+	?	0
5-proz. Ammoniak	0	?	?	?	0	0	?	0	0	0	0	+	0	0	0
10-proz. Ammoniak	0	+	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
1-prom. Sublimat	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+
Kupferacetat, gesättigte Lösung	0	+	+	+	0	0	+	+	?	?	0	+	+	?	?
10-proz. Bleizucker	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	+	+	0	0
10-proz. Wismutsubnitrat	0	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+
2-proz. Phenol	0	+	+	+	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	+

Ergebnisse: 1) Keiner unter den geprüften Stoffen zerstörte das fibrino- oder kaseinolytische, unter Schonung des albumo- und serolytischen, Vermögen des Pepsins. Nur Gelatine bildete eine Ausnahme, welche indessen bedeutungslos ist, weil auch in der Kontrolle Gelatine nicht angegriffen wurde.

2) Die stärkeren Abweichungen wurden bei alkalischen Stoffen, wie 20–50-proz. Soda, 5–10-proz. Ammoniak, 10-proz. Bleizucker beobachtet.

Versuch II. Wäre Pepsin ein Gemisch verschiedener peptischer Enzyme, so dürfte eine Begünstigung durch Säuren ab und zu ungleich ausfallen.

Pepsinlösungen im Verhältnis von 1:500, 1:1000, 1:5000, 1:10000, 1:20000 wurden mit Säuren und Eiweißwürfelchen beschickt, resp. auf Gelatine einwirken lassen. Die Gelatineproben standen bei 20° C, die übrigen bei 37° C. Die Beobachtung erfolgte nach 15 Tagen für die Gelatine-, nach 4–8 Tagen für die Eiweißproben:

	1:500					1:1000					1:5000					1:10000					1:20000				
	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
3 % Salzsäure	mm 00	+	+	+	+	mm 00	+	+	+	+	mm 00	+	+	+	+	mm 00	+	+	+	+	mm 00	+	+	+	+
1 % Milchsäure	2–3	+	+	+	+	2–2	+	+	+	+	1–1	+	+	+	+	00	+	+	+	+	00	+	+	+	+
1 % Oxalsäure	6–6	+	+	+	+	5–6	+	+	+	+	3–3	+	+	+	+	4–4	+	+	+	+	3–3	+	+	+	+
1 % Weinsäure	6–6	+	+	+	+	1–1	+	+	+	+	1–1	+	+	+	+	00	+	+	+	+	00	+	+	+	+

Ergebnisse: 1) Die angewandten Säuren beeinflussten im gleichen Maße das eiweiß-, serum-, kasein- und fibrinlösende Vermögen von Pepsin.

2) Gelatine bildete wiederum eine Ausnahme, indem Salzsäure am wenigsten, Oxalsäure am meisten günstig war.

Dieser Versuch spricht wiederum gegen eine Spezifität der proteolytischen Enzyme.

## 5. Versuche mit Mikrobenproteasen.

### I. Rein- und Mischkulturen.

1 ccm 7-proz. Phenolgelatine wurde mit 0,5 ccm Enzymlösung und 0,5 ccm der Chemikalienlösung vermischt. Nach 48-stündigem Verweilen bei 37° C wurden die Röhrchen erkalten lassen, um den Verflüssigungsgrad der Gelatine festzustellen. Die Fibrinflocken wurden in 2,5 ccm Enzymlösung + 2,5 ccm Salzlösung eingeweicht. Schwefelwasserstoff wurde in 5 ccm Enzymlösung halbstündig durchgeleitet.

Untersucht wurden die Kulturflüssigkeiten von *B. prodigiosum*, *pyocyaneum*, *vulgare*, *tetani*, *anthracis symptomatici*, *oedematis maligni*, *Vibrio cholerae*, *V. Finkler-Prior*, *V. massauaensis*, *V. Metschnikoffii*, *V. tyrogenes*, *V. Milleri* und 7 Gemische derselben Fäulnisbakterien.

Als Chemikalien kamen verschiedene Säuren, und zwar Salz-, Salpeter-, Milch-, Aepfel-, Butter-, Ameisen-, Zitronen-, Essigsäure und Schwefelwasserstoff in Anwendung.

Fibrin wurde nur in den Kontrollen, in der Kulturflüssigkeit von *B. pyocyaneum*, *tetani* und in einem Gemisch der Fäulnisbakterien auch nach Einwirkung von H<sub>2</sub>S angegriffen; das gelatinolytische Enzym blieb aber nach Behandlung mit verschiedenen Säuren in manchen Fällen und zwar bei *B. prodigiosum*, *pyocyaneum*, *vulgare*, *V. Finkler-Prior*, *Milleri* bei Gegenwart von allen Säuren unter Ausnahme der Schwefelsäure erhalten.

Die Glutrinase des Rauschbrandbacillus war nur bei Gegenwart von Schwefel-, Salpeter- und Zitronensäure unwirksam; die von *B. tetani* nur mit Butter-, Zitronen- und Essigsäure, die von *V. cholerae* nur mit Salz- und Essigsäure, die von *V. tyrogenes* nur mit Essigsäure wirksam.

Salz-, Essig-, Milch-, Butter-, Ameisen- und Aepfelsäure waren weniger schädlich, Schwefel- und Salpetersäure am schädlichsten. Bei Gegenwart von Essigsäure wurde Gelatine von allen Kulturflüssigkeiten, bei Gegenwart von Schwefelsäure von keiner Kulturflüssigkeit angegriffen. Am empfindlichsten erwies sich die Glutrinase von *V. tyrogenes*, am widerstandsfähigsten die von *Bact. prodigiosum*.

### II. Versuche mit faulenden Flüssigkeiten.

Bouillonhaltige Reagensgläser wurden mit den bereits erwähnten Proben aus faulenden Flüssigkeiten, schmutzigen Böden usw. geimpft. Nach 10-tägigem Brüten bei 37° C wurde jede Rohkultur mit Würfelchen von Kasein, Serum, Eiweiß, Fibrinflocken und Toluol, resp. Thymol oder Phenol versetzt. Dieselben Rohkulturen wurden auf Gelatine im Röhrchen geprüft. Die Eiweißstoffproben standen bei 37° C, die Gelatineproben bei 20° C. Jeder Versuch wurde 3mal mit je 5 Probierröhrern und 5 Röhrchen wiederholt und dauerte 10 Tage.

Fäulnis- gemisch	Toluol					Thymol					Phenol					Kontrolle				
	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
No. 1	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+
" 2	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+
" 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 17	+	0	0	0	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 18	+	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 19	+	0	+	0	0	0	+	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 20	—	0	+	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+
" 21	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 22	+	0	0	0	0	+	+	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 23	+	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 24	+	0	0	0	0	—	0	+	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 25	+	0	+	0	0	+	+	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+
" 26	+	0	+	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+

**Ergebnisse:** 1) Keine der 26 Bouillonrohulturen behielt das albumo-, sero-, kaseino- und fibrinolytische unter Verlust des glutinolytischen Vermögens oder das albumo- und serolytische unter Verlust des kaseino- und fibrinolytischen Vermögens bei.

2) Gelatine nicht-verflüssigende Kulturen hatten keine Wirkung auf die höheren Eiweißstoffe.

3) Erhaltung des fibrino- und kaseinolytischen Enzymes unter Verlust des sero- und albumolytischen Vermögens kam ebenfalls niemals vor.

Dadurch wird unsere Auffassung verstärkt, wonach die einzelnen proteolytischen Fähigkeiten einem einzigen Enzymmolekül entspringen.

### Kapitel XIII.

#### Ueber die verflüssigende Wirkung verschiedener Stoffe auf Gelatine, Fibrin, Kasein, Blutserum und Eiweiß.

Obwohl eine reiche Literatur über die Einwirkung verschiedener Chemikalien auf Eiweißkörper vorhanden ist, war es doch angezeigt, die Verflüssigung der 5 in dieser Arbeit angewandten Eiweißstoffe durch die unten angeführten Chemikalien in denselben Verhältnissen und nach denselben Methoden wie bei den Enzymversuchen zu prüfen.

Die zuletzt angegebenen 8 Salzlösungen wurden unter Zusatz von 1 Proz. Phenol resp. 2 Proz. Thymol geprüft (s. folgende Tabelle).

**Ergebnisse:** 1) Die Verflüssigung ging am leichtesten bei Gelatine vor sich, wie es aus folgender Zusammenstellung hervorgeht:

Gelatine wurde von 9 Stoffen verflüssigt  
Fibrin " " 4 " "

Kasein wurde von 6 Stoffen verflüssigt

Serum       "       "       2       "       "  
 Eiweiß     "       "       2       "       "

		Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
Salzsäure	25-proz.	+ (2 $\frac{1}{2}$ Std.)	0	0	0	0
	50 "	+ } 2 Std.	0 } 7 Tage	0 } 7 Tage	0 } 7 Tage	0 } 7 Tage
	75 "	+ }	0 }	0 }	0 }	0 }
Schwefelsäure	25 "	+ }	0 }	0 }	0 }	0 }
	50 "	+ } 2 Min.	+ } 20 Std.	+ } 20 Std.	+ } 20 Std.	+ } 20 Std.
	75 "	+ }	+ } 1 Min.	+ }	+ }	+ }
Salpetersäure	5 "	0	0	0	0	0
	10 "	+ }	0 }	0 }	0 }	0 }
	20 "	+ } 2 Tage	+ } 7 Tage	+ } 7 Tage	+ } 7 Tage	+ } 7 Tage
	50 "	+ }	+ }	+ }	+ }	+ }
Milchsäure	25 "	0	0	?	0	0
	50 "	0 } 5 Tage	0 } 5 Tage	?	0 } 5 Tage	0 } 5 Tage
	75 "	+ }	0 }	+ }	0 }	0 }
Ameisensäure	25 "	+ }	0 }	0 }	0 }	0 }
	50 "	+ } 1 Std.	+ } 5 Tage	+ } 24 Std.	+ } 5 Tage	+ } 5 Tage
	75 "	+ }	0 }	+ }	— }	0 }
Oxalsäure gesättigt		0	0	0	0	0
Essigsäure	25-proz.	0	0	0	0	0
	50 "	0	0	0	0	0
	75 "	0	0	0	0	0
Aetzkali	0,5 "	0	0	+	0	0
	1 "	0 } 4 Tage	+ } 5 Tage	+ } 2 Tage	+ } 5 Tage	+ } 5 Tage
	1,5 "	+ }	+ } 48 Std.	+ } 4 Std.	+ } 48 Std.	+ } 48 Std.
Ammoniak	25 "	0	0	+	0	0
	50 "	0	0	+	0	0
	75 "	0	0	+	0	0
	Konz.	0	0	+ } 7 Tage	0	0
Natriumsulfat gesättigt		+ 5 Tage	0	0	0	0
Ammoniumsulfat	"	+ 5 "	0	0	0	0
Salpetersulfat	"	+ 5 "	0	0	0	0
Strontiumnitrat	"	0	0	0	0	0
" -lactat	"	0 ?	0 ?	0 ?	0 ?	0 ?
" -oxalat	"	0	+ ?	+ 0	0	0
" -acetat	"	0	0	0	0	0
Calciumnitrat	"	0	0	0	0	0
" -lactat	"	0	0 ?	0	0	0
" -oxalat	"	0	0 ?	0 ?	0 ?	0 ?
" -acetat	"	0	0	0	0	0

2) Die einzelnen Eiweißstoffe wurden von folgenden Stoffen verflüssigt:

Eiweißkörper	Verflüssigender Stoff	Konzentration	Einwirkungs-dauer
Gelatine:	Salzsäure	50-proz.	2 Stunden
	Schwefelsäure	25- "	2 Minuten
	Salpetersäure	50- "	2 Tage
	Milchsäure	75- "	5 "
	Ameisensäure	25- "	1 Stunde
	Aetzkali	1,5- "	4 Tage
	Natriumsulfat	gesättigt	5 "
	Ammoniumsulfat	"	5 "
	Salpeter	"	5 "

Eiweißkörper	Verflüssigender Stoff	Konzentration	Einwirkungsdauer
Fibrin:	Schwefelsäure	50-proz.	20 Stunden
	Salpetersäure	20- "	7 Tage
	Aetzkali	1,5- "	48 Stunden
	Strontiumoxalat	gesättigt	5 Tage (Spuren)
Kasein:	Schwefelsäure	75-proz.	20 Stunden
	Milchsäure	75- "	3 Tage
	Ameisensäure	50- "	24 Stunden
	Aetzkali	1,5- "	4 "
	Ammoniak	25- "	12 "
	Strontiumoxalat	gesättigt	5 Tage (Spuren)
Serum:	Ameisensäure	75-proz.	5 Tage (unsicher)
	Aetzkali	1,5- "	48 Stunden
Eiweiß:	Schwefelsäure	50-proz.	20 Stunden
	Aetzkali	1,5- "	48 "

Nach der Wirkung lassen sich die geprüften Stoffe nach folgenden Reihen anordnen:

Nach der geringsten Konzentration		Nach der minimalen Wirkungsdauer		Nach der Anzahl verflüssigter Eiweißkörper	
1. Aetzkali	1,5-proz.	1. Schwefelsäure	2 Min.	1. Aetzkali	5
2. Ammoniak	25- "	2. Ameisensäure	1 Std.	2. Schwefelsäure	4
3. Schwefelsäure	25- "	3. Salzsäure	2 "	3. Ameisensäure	3
4. Salpetersäure	25- "	4. Ammoniak	12 "	4. Milchsäure	2
5. Salzsäure	25- "	5. Salpetersäure	48 "	5. Salpetersäure	2
6. Ameisensäure	25- "	6. Aetzkali	48 "	6. Strontiumoxalat	2
7. Milchsäure	75- "	7. Milchsäure	72 "	7. Salzsäure	1
				8. Natriumsulfat	1

#### Kapitel XIV.

##### Ueber die hemmende Wirkung verschiedener Stoffe auf die Bildung und Ausscheidung der Mikrobenproteasen.

Wären die einzelnen proteolytischen Wirkungen von ebenso vielen selbständigen Enzymen entfaltet, so dürfte man mittels geeigneter chemischer Beeinflussungen die Bildung und Ausscheidung bald des einen, bald des anderen Teilenzym hemmen oder begünstigen können. Zur Lösung dieser Frage waren Mikroorganismen besonders geeignet. Als Chemikalien kamen nur solche in Betracht, welche die Entwicklung des Versuchsorganismus weniger hemmen.

Phenol, welches nach Chantemesse, Widal<sup>1)</sup> und Wood<sup>2)</sup> die Gelatineverflüssigung durch Choleravibrio und andere Bakterien hemmt, mußte vermieden werden, weil es die Entwicklung dieser Organismen verhindert; gleiches gilt nach meinen Versuchen<sup>3)</sup> für Salicyl-, Oxal-, Butter-, Aepfelsäure, Soda und Natronlauge; dieselben Resultate erhält man bei der Optima wie bei anderen Temperaturen. Darauf prüfte ich einige Alkaloide und kam zu folgenden Schlüssen:

Bei Gegenwart von 0,5-proz. Antipyrin, Chinin und Strychnin bildeten *B. prodigiosum* und *pyocyaneum* trotz üppiger Entwicklung in

1) Chantemesse et Widal, Gaz. hebdom. 1887. p. 196.

2) Wood, G., in Hüppe, Meth. z. Bakterienforschung. 1889. p. 299.

3) Fermi, C., Arch. f. Hyg. Bd. 10. p. 35.

Bouillonkultur keine oder nur Spuren von Protease; Gelatine war nach 4 Tagen kaum verflüssigt.

Um die Bedeutung des Substrates näher zu untersuchen, züchtete ich mehrere Mikroorganismen auf verschiedenen Substraten und fand, daß ein glutinolytisches Enzym nicht nur auf Gelatine, sondern auch, obwohl in geringerer Menge, auf anderen Nährböden, wie Agar, Bouillon, verdaulichem Eiweiß (Pepton) oder gar auf eiweißfreien Substraten, wie in einer Lösung von Ammon-, Mineralsalzen und Glyzerin gebildet wird, wo seine Produktion ganz nutzlos erscheint. Auf Kartoffeln bildeten dagegen *V. cholerae*, *V. Finkler-Prior*, *B. prodigiosum* und *pyocyaneum* keine Glutinae. Außerdem erzeugten *B. prodigiosum* und *pyocyaneum* auf eiweißfreien, aber glukose-, saccharose- oder laktosehaltigen Substraten keine Glutinae, während dieses Enzym bei Ersatz des Zuckers mit Glyzerin reichlich abgesondert wurde. Mannit konnte ebenfalls eine Spur von gelatineverflüssigender Wirkung unter diesen Umständen zustande bringen.

Bei neueren Untersuchungen über diesen Gegenstand prüfte ich:

- A. Die hemmende Wirkung von Alkaloiden und Narkotika auf Bildung der Bakterienproteasen.
- B. Die hemmende oder günstige Wirkung einiger Salze.
- C. Die hemmende Wirkung eines Zuckerzusatzes, und zwar:
  - 1) Ohne die gebildete Säure zu neutralisieren;
  - 2) unter Neutralisation mittels a) eines Magnesiaüberschusses; b) eines wiederholten Sodazusatzes.
  - 3) Auf flüssigen und festen Substraten.

#### A. Ueber die hemmende Wirkung von Alkaloiden und Narkotika auf die Bildung der Bakterienproteasen.

Es wurden die bereits erwähnten Bouillonrohulturen von Fäulnisbakterien angewandt, indem die Chemikalien und die Eiweißkörper vor der Impfung zugesetzt wurden. Die Versuche dauerten 10 Tage bei 35° C (s. folgende Tabelle).

Ergebnisse: 1) In keinem Falle erzeugten proteolytisch wirkende Mikroorganismen albumo- und serolytische, ohne gleichzeitig fibrino- und kaseinolytische Enzyme auszuschcheiden.

2) Bei den untersuchten Stoffen nimmt die hemmende Wirkung auf Proteaseausscheidung, zum Teil auch auf Bakterienentwicklung nach folgender Reihe ab: Chinin, Antipyrin, Strychnin, Morphin, Trional, Sulfonal.

Konzentration	Chinin				Antipyrin				Strychnin			
	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
0,1-proz.	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
0,2- "	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
0,3- "	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
0,5- "	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
1- "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2- "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3- "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5- "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



Konzentration	Morphin				Sulfonal				Trional			
	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
0,1-proz.	+	+	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+
0,2- "	+	+	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+
0,3- "	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+
0,5- "	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+
1- "	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+
2- "	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+
3- "	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+
5- "	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kontrolle	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

3) Eine beschleunigende Wirkung wurde von 0,1—0,3-proz. Strychnin entfaltet.

### B. Ueber hemmende oder günstige Wirkung verschiedener Salze.

Reagensgläser mit 2,5, 5, 10-proz. Salzlösungen (in Leitungswasser) und Würfelchen der Eiweißkörper wurden mit Fäulnisbakteriengemischen geimpft und 10 Tage bei 35° C aufbewahrt.

	2,5-proz.				5-proz.				10-proz.			
	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
Strontiumnitrat	—	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Strontiumoxalat	+	0	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+
Strontiumlaktat	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Strontiumacetat	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Calciumnitrat	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Calciumoxalat	0	+	+	+	0	+	0	—	0	+	0	0
Calciumlaktat	+	+	+	0	+	+	0	0	0	+	0	0
Calciumacetat	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0
Kontrollen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Ergebnisse: 1) In keinem Falle bildeten proteolytisch wirkende Bakterien bei Gegenwart verschiedener Salze sero- und albumolytisches, ohne fibrino- und kaseinolytisches Enzym auszuscheiden.

2) Nach der günstigen Wirkung auf Bakterienproteasen lassen sich die angewandten Salze in folgender Reihenfolge ordnen:

- 1) Strontiumoxalat.
- 2) Calciumacetat.
- 3) Calciumlaktat.
- 4) Calciumoxalat.
- 5) Calciumnitrat.
- 6) Strontiumlaktat.
- 7) Strontiumacetat.
- 8) Strontiumnitrat.

Die ersten 4 Salze führten die Proteolyse bis zur vollständigen Eiweißauflösung.

3) Die günstigste Konzentration lag zwischen 2,5 und 5 Proz. Strontiumoxalat war aber bei 10 Proz. noch wirksamer.

4) In keiner Probe bildete sich Pepton.

## C. Ueber die hemmende Zuckerwirkung.

## 1) Ohne die gebildete Säure zu neutralisieren.

Versuch I. Von 40 Reagensgläsern mit halbverdünnter Bouillon und Eiweißwürfelchen erhielten 20 5-proz. Glukose, die übrigen wurden zuckerfrei angewandt. Zur Impfung dienten 10 verschiedene Fäulnisbakteriengemische; die Wirkung wurde nach 5, 10 und 15 Tagen beobachtet.

Gemisch	Nach 5 Tagen					Nach 10 Tagen					Nach 15 Tagen				
	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß

## a) Mit Glukosezusatz.

No.	mm					mm					mm				
1	.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	9-10	0	0	0	0
2	.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	6-6	0	0	0	0
3	.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	10-12	0	0	0	0
4	.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	5-6	0	0	0	0
5	.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	10-9	0	0	0	0
6	.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	10-10	0	0	0	0
7	.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	5-5	0	0	0	0
8	.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	7-9	0	0	0	0
9	.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	10-10	0	0	0	0
10	.	0	0	0	0	.	0	0	0	0	5-6	0	0	0	0

## b) Ohne Glukosezusatz.

No.															
1	.	0	0	0	0	.	+	0	0	0	7-9	+	+	0	0
2	.	0	0	0	0	.	+	0	0	0	6-7	+	0	0	0
3	.	0	0	0	0	.	+	0	0	0	5-6	+	+	0	0
4	.	0	0	0	0	.	+	0	0	0	10-9	+	+	+	+
5	.	0	0	0	0	.	+	0	0	0	7-6	+	+	0	0
6	.	0	0	0	0	.	+	0	0	0	8-9	+	0	0	0
7	.	0	0	0	0	.	+	0	0	0	10-9	+	+	+	+
8	.	0	0	0	0	.	+	+	0	0	10-9	+	+	0	0
9	.	0	0	0	0	.	+	0	0	0	3-3	+	+	0	0
10	.	0	0	0	0	.	+	+	0	0	3-3	+	+	0	0

Glukose, resp. die daraus gebildete Milchsäure hemmten beinahe vollständig die Proteaseausscheidung aus Fäulnisbakterien; ging in vereinzelten Fällen eine Proteolyse vor sich, so wurden bei Verflüssigung des Eiweißes und Serumeiweißes auch Fibrin, Kasein und Gelatine angegriffen.

Versuch II. Die Proben wurden wie im vorigen Versuche an- gestellt; nur wurden nach 5 Tagen die Kulturflüssigkeiten unter Phenol- zusatz auf Gelatine im Röhrchen einwirken lassen. Bei Gegenwart von Glukose wurden in keinem Falle die 5 Eiweißstoffe angegriffen; in den glukosefreien Proben wurden dieselben schnell verdaut.

## 2) Unter Neutralisation der entstehenden Säure.

## a) Durch Magnesiumoxyd.

Versuch I. Proben mit 10 ccm verdünnter, alkalischer, mit Lackmus blau gefärbter Bouillon wurden mit Würfelchen der 4 Eiweiß- stoffe, dann entweder mit 5-proz. Glukose oder mit gebrannter Magnesia oder mit Glukose und Magnesia versetzt. 1 ccm derselben Mischungen wurde auf Gelatine im Röhrchen geschichtet, dann alle Proben mit fünf

verschiedenen Bakteriengemischen geimpft. Die Gelatineproben standen bei 20° C, die übrigen bei 37° C. Nach 10 Tagen:

	Glukose + MgO	Glukose	MgO	Kontrollen
<b>Gemisch No. 1</b>				
Gelatine	+ 0	0 0	0 0	+ +
Fibrin	+ 0	0 0	— 0	+ +
Kasein	+ 0	0 +	0 0	+ +
Serum	0 0	0 0	0 0	+ +
Eiweiß	0 0	0 0	0 0	+ +
<b>Gemisch No. 2</b>				
Gelatine	0 0	0 0	0 0	+ +
Fibrin	0 0	0 0	0 0	+ +
Kasein	0 0	0 0	— +	+ +
Serum	0 0	0 0	0 0	+ +
Eiweiß	0 0	0 0	0 0	+ +
<b>Gemisch No. 3</b>				
Gelatine	+ +	0 0	+ 0	+ +
Fibrin	+ +	0 0	0 0	+ +
Kasein	+ +	0 0	— +	+ +
Serum	+ +	0 0	0 0	+ +
Eiweiß	+ +	0 0	0 0	+ 0
<b>Gemisch No. 4</b>				
Gelatine	0 0	+ 0	0 0	+ +
Fibrin	0 0	0 0	0 0	+ +
Kasein	0 0	+ +	0 0	+ +
Serum	0 0	0 0	0 0	+ +
Eiweiß	0 0	0 0	0 0	+ 0
<b>Gemisch No. 5</b>				
Gelatine	+ +	0 0	0 0	+ +
Fibrin	0 +	0 0	0 0	+ +
Kasein	+ +	0 0	0 0	+ +
Serum	+ 0	0 0	0 0	+ +
Eiweiß	0 0	0 0	0 0	+ +

1) Glukose hemmte die Bakterienentwicklung und Proteaseausscheidung infolge der Milchsäurebildung; die Neutralisation mit gebrannter Magnesia genügte, um eine schwache Proteolyse hervortreten zu lassen.

2) Ein Ueberschuß von Magnesiumoxyd hemmte ebenfalls die Bakterienentwicklung und die Proteolyse.

3) Kasein wurde meistens schneller angegriffen als Fibrin.

4) Keines der angewandten Bakteriengemische verflüssigte Eiweiß und Serum ohne Kasein, Fibrin und Gelatine anzugreifen.

b) Durch wiederholten Sodazusatz.

Versuch II. Wie im vorigen Versuche bereitete Proben wurden 3mal am Tage mit Soda versetzt, um eine alkalische oder neutrale Reaktion zu erhalten. Nach 10 Tagen prüften wir die Kulturflüssigkeiten an ihrer gelatineverflüssigenden Wirkung (s. folgende Tabelle).

Die hemmende Wirkung geht zum größten Teil von der freien Milchsäure aus, denn die fortwährende Neutralisation gestattete eine normale Bakterienentwicklung und Proteasebildung.

In keinem Falle wurden Eiweiß und Serum unter Schonung des Kaseins und Fibrins gelöst.

Oft wurde Kasein unter Schonung des Fibrins angegriffen.

Gemisch	5-proz. Glukose					Kontrollen				
	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
No. 1	22—22	0 0	+ +	0 0	0 0	20—20	+ +	+ +	+ +	0 0
" 2	25—27	0 +	+ +	0 0	0 0	25—25	+ +	+ +	+ 0	0 0
" 3	20—21	0 0	+ +	0 0	0 0	26—29	+ +	+ +	+ 0	0 0
" 4	8—8	0 0	+ +	0 0	0 0	29—30	+ +	+ +	+ —	0 0
" 5	12—12	0 0	+ +	0 0	0 0	25—22	+ +	+ +	0 0	0 0

**Versuch III.** 10 Reagensgläser erhielten 5 ccm 10-proz. mit 1 Proz. Soda versetzter Gelatine, 10 ccm alkalischer 5-proz. glukosehaltigen, mit Lackmus gefärbten Bouillon, und Fibrin-, Kasein-, Serum- und Eiweißwürfelchen. Dann wurden die Proben mit 5 Bakteriengemischen geimpft. Weitere 10 Proben bereiteten wir ohne Glukosezusatz. Die Proben standen bei 22° C und wurden nötigenfalls 2mal am Tage mit Soda neutralisiert.

Nach 10 Tagen war auch bei Gegenwart von Glukose in keinem Falle fibrino- und kaseinolytisches Enzym ohne gleichzeitige Bildung des glutinolytischen ausgeschieden worden.

Die hemmende Wirkung des Zuckers war in erster Linie auf die freie Milchsäure zurückzuführen, wie die Proteaseausscheidung bei fortwährender Neutralisation lehrt.

Kasein wurde bei Zuckergegenwart schneller als Fibrin verdaut, was bei Anwesenheit von Zucker und lebenden Bakterien nicht erfolgte.

### 3. Bakterienentwicklung und Proteasebildung auf flüssigen und festen Nährböden.

Ich versuchte zuletzt, ob Zucker eingetauchte anders als oberflächlich wachsende Bakterien beeinflusst und ob Gelatine die gebildete Säure binden kann.

Platten mit 10 ccm alkalischer, mit Lackmus gefärbter, 5 Proz. Glukose und Eiweißwürfelchen versetzter Bouillon wurden mit 15 Mikroorganismen geimpft.

Proben von 15-proz., mit Lackmus gefärbter, 5 Proz. Zucker enthaltender Gelatine wurden mit 14 Mikroorganismen durch Strich geimpft.

Die flüssigen Proben standen 10 Tage bei 35° C, die Gelatineproben 1—5 Tage bei 22° (s. folgende Tabelle).

1) In Glukosebouillon wurden Bakterienentwicklung und Proteaseausscheidung von der gebildeten Säure gehemmt. In den glukosefreien Kontrollen bildeten alle Bakterien Glutininase; in den Glukoseproben bildete nur *Bact. pyocyaneum* Glutininase und Kasease.

2) Auf Glukosegelatine wurde dagegen Glutininase ebenso rasch wie in den Kontrollen ausgeschieden.

3) Die stärkste Ansäuerung ergab Glukose, dann Saccharose, die geringste Laktose; dementsprechend waren Entwicklung und Proteasebildung auf Glukosegelatine viel schwächer.

4) Danach scheinen submerses Leben und Gegenwart eines säurebindenden Eiweißkörpers (Gelatine) die Zuckerwirkung erheblich zu beeinflussen.

	Bouillonkulturen										Gelatineplatten							
	5% Glukose					Kontrollen					5% Glu- kose	5% Lak- tose	5% Sac- charose	Kon- trollen				
	Acidität	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Acidität	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Acidität	Gelatine	Acidität	Gelatine	Acidität	Gelatine
Staphylococc. aureus	+	0	0	0	0	0	—	2	0	0	0	0	—	+	—	+	0	+
Sarcina lutea	+	0	0	0	0	0	—	3	0	0	0	0	—	+	—	+	0	+
Bact. prodigiosum	+	0	0	0	0	0	—	3,5	0	0	0	0	+	+	—	+	0	+
„ pyocyaneum	+	2	0	+	0	0	—	3	0	+	0	0	+	+	—	+	0	+
Bac. fluor. liquefaciens	+	0	0	0	0	0	—	2	0	0	0	0	+	+	—	+	0	+
Proteus vulgaris	+	0	0	0	0	0	—	4	0	+	0	0	+	+	—	+	0	+
Bac. mesent. vulgatus	+	0	0	0	0	0	—	3	0	0	0	0	—	+	—	+	0	+
„ anthracis	+	0	0	0	0	0	—	1	0	0	0	0	—	+	—	+	0	+
„ subtilis	+	0	0	0	0	0	—	2	0	0	0	0	—	+	—	+	0	+
„ megatherium	+	0	0	0	0	0	—	2,5	0	0	0	0	+	+	—	+	0	+
Vibrio cholerae	+	0	0	0	0	0	+	2	0	0	0	0	+	+	—	+	0	+
„ massauensis	+	0	0	0	0	0	+	1	0	0	0	0	+	+	—	+	0	+
„ Finkler-Prior	+	0	0	0	0	0	—	2	0	0	0	0	+	+	—	+	0	+
„ Metschnikoffii	+	0	0	0	0	0	—	2	0	0	0	0	+	+	—	+	0	+
„ tyrogenes	+	0	0	0	0	0	—	1,5	0	0	0	0	+	+	—	+	0	+

## Kapitel XV.

## Verhalten der proteolytischen Enzyme gegenüber Fällungsmitteln.

## Fraktionierte Fällung mit Alkohol.

Bei einer ersten Versuchsreihe wurden Pepsin- und Trypsinlösungen mit verschiedenen Alkoholmengen gefällt und gleiche Zeit in Berührung gelassen; bei einer zweiten Versuchsreihe wurden dieselben Lösungen mit der gleichen Menge Alkohol gefällt, aber verschieden lange Zeit in Berührung gelassen.

## A. Gleichlange Behandlung mit verschiedenen Alkoholmengen.

Versuch 1. Trypsin- und Pepsinlösungen wurden mit 95-proz. Alkohol gefällt; nach 24 Stunden filtrierten wir, lösten den Trypsinniederschlag in 30 ccm 1-proz. Phenols, den Pepsinniederschlag in der gleichen Menge 4-proz. Weinsäure und prüften ihre Wirkung; die Verdauung dauerte 10 Tage.

Trypsin	Alkohol	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
1. Trypsin						
ccm	ccm	mm				
25	25	15; 17; 18	0	0	0	0
25	50	15; 17; 19	+	0	0	0
25	100	16; 16; 16	+	0	0	0
25	150	17; 17; 16	+	0	0	0
2. Pepsin.						
25	25	0; 0; 0; 0	+	+	+	+
25	50	2; 3; 3,5; 3	+	+	+	+
25	100	4; 4; 4; 4	+	+	+	+
25	150	6; 7; 7,5; 8	+	+	+	+

Versuch 2. 1:100 Trypsin- und 1:200 Pepsinlösungen wurden mit 95-proz. Alkohol gefällt und nach 5 Stunden abfiltriert; die Niederschläge wurden wie oben gelöst und geprüft.

Trypsin	Alkohol	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
1. Trypsin.						
ccm	ccm	mm				
25	25	11; 11; 12	+	+	0	0
25	50	13; 12; 13	+	+	0	0
25	100	14; 15; 15	+	+	0	0
25	150	15; 16; 16	+	+	0	0
2. Pepsin.						
25	25	0	+	+	+	+
25	50	0	+	+	+	+
25	100	0	+	+	+	+
25	150	0	+	+	+	+

### B. Verschieden lange Behandlung mit der gleichen Alkoholmenge.

1-proz. Trypsin- und Pepsinlösungen wurden mit 3mal soviel Alkohol gefällt; die Filtration erfolgte nach 30 Minuten, 1, 5, 10, 24 Stunden. Die Niederschläge wurden wie oben gelöst und geprüft.

Berührungsdauer	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
1. Trypsin.					
30 Minuten	5—5—5	0	0	0	0
1 Stunde	5,5—5,5—5,5	0	0	0	0
5 Stunden	6—6—6	0	0	0	0
10 „	9—10—10	0	0	0	0
24 „	11—11—10,5	0	0	0	0
2. Pepsin.					
30 Minuten	0	+	+	+	+
1 Stunde	0	+	+	+	+
5 Stunden	0	+	+	+	+
10 „	0	+	+	+	+
24 „	0	+	+	+	+
Kontrolle, 1 Proz. Pepsin	2—2—2	+	+	+	+

Ergebnisse: 1) Fraktionierte Alkoholfällung gestattet keine Trennung von albumo- und serolytischer von der fibrino-, kaseino- und gelatino-lytischen Wirkung.

2) Die Schonung der fibrino-, kaseino- und glutinolytischen Wirkung unter Verlust der sero- und albumolytischen Fähigkeit erklärt sich aus einer Verdünnung oder Attenuation des Enzymes.

Eine schärfere Abstufung des proteolytischen Vermögens bei den einzelnen Fällungen dürfte sich aus einer weiteren Fraktionierung der Enzym- und Alkoholkonzentration oder der Behandlungsdauer ergeben.

### Kapitel XVI.

**Hängt die Wirksamkeit einer Ektoprotease auf einen bestimmten Eiweißkörper von der Natur oder der Konzentration des Enzyms ab? Kann man einer Proteasenlösung die Wirksamkeit auf unangreifbare Eiweißstoffe durch Eindichtung erteilen?**

Verlust oder natürliches Fehlen eines einzelnen proteolytischen Vermögens kann verschiedene Ursachen haben. Zunächst könnte man annehmen, das Enzymmolekül bestehe aus einem Kern und ebenso vielen Seitenketten, wie die angegriffenen Eiweißkörper sind. In diesem Falle könnte das Fehlen oder die Zerstörung der Seitenkette, d. i. der entsprechenden proteolytischen Fähigkeit, alle vorhandenen oder nur

einzigste Enzymmoleküle treffen. Anstatt an eine Zerstörung der Seitenkette könnte man an eine Attenuation denken, die wir mit einer Verkürzung der Seitenkette versinnlichen können; die Attenuation kann auch allgemein oder partiell sein.

Die Annahme solcher Seitenketten im Proteasenmolekül würde aber schließlich zur Annahme einer Spezialisierung des Seitenkettenbestandes innerhalb des Enzymmoleküls führen; während alle bisher angeführten Beobachtungen die Unhaltbarkeit solcher Spezifität erweisen. Die Attenuation kann daher nur das ganze Proteasenmolekül treffen.

Wir müssen daran festhalten, daß Proteasen Emulsionskolloide sind, daher aus quellbaren Mizellen bestehen, welche ohne chemische Veränderung an Volumen gewinnen oder verlieren können. Man kann dann eine Wirkungsabnahme aus einer Kondensation, d. h. einer Verminderung der wirksamen Oberfläche erklären. Anstatt der Attenuation kann man auch an eine Zerstörung verschiedener Moleküle, d. h. an eine numerische Abnahme der Proteasenmoleküle denken.

Zuletzt kann auch Kombination von Attenuation und allgemeiner oder teilweiser Zerstörung vorkommen. So könnten in einer Proteasenlösung ungleich stark wirkende Mizellen, z. B. unwirksame Mizellen (zymogene), inaktivierte Mizellen (zymoide), attenuierte und voll wirksame Mizellen vorhanden sein.

Warum aber die Attenuation nur einige Mizellen trifft, das dürfte man vielleicht aus Eindichtungsversuchen der Proteasenlösungen eruieren. Hatte z. B. die Protease das sero- und albumolytische Vermögen eingebüßt und nach Konzentrierung dieselben Wirkungen wieder entfaltet, so kann man an eine Zerstörung von spezifischen Seitenketten nicht denken. Dadurch ist aber auch gezeigt, daß das Proteasenmolekül keine Spezifität besitzt.

Wir versuchten, ob einiger Partialvermögen durch physikalische und chemische Agentien beraubte oder derselben natürlich entbehrende Proteasen mittels Konzentrierung durch Fällung oder Eindampfung im Vakuum bei niedriger Temperatur die verlorenen oder fehlenden Eigenschaften gewinnen können.

Die Untersuchungen betrafen:

a) Attenuierte, dann durch Alkoholfällung oder Aussalzung konzentrierte Pepsin- und Trypsinlösungen.

b) Attenuierte, dann im Vakuum eingedichtete Pepsin-, Trypsinlösungen und Mikrobenproteasen.

a) Konzentration durch Alkoholfällung.

Pepsin wurde durch 1-stündige Erwärmung auf 60° C und Behandlung mit 5-proz. Ammoniak, Trypsin durch 1-stündige Erwärmung auf 50° C und 24-stündige Behandlung mit 1-proz. Essigsäure attenuiert. Nach Neutralisation wurden die ursprünglich 1-proz. Lösungen bis auf 5 und 10 Proz. durch Fällung mit Alkohol konzentriert; die 6 Lösungen wurden dann in üblicher Weise, Pepsin unter Zusatz von 3-proz. Salzsäure, geprüft. Die Verdauung dauerte 5—10 Tage (s. folgende Tabelle).

Ergebnisse: 1-proz. Pepsinlösungen, welche durch Erwärmung ganz unwirksam oder durch Ammoniakbehandlung das albumo- und glutinolytische Vermögen eingebüßt hatten, zeigten wieder alle Partialvermögen nach der Eindichtung auf 5—10 Proz. mittels Alkoholfällung.

1-proz. Trypsin, das sero- und albumolytische Vermögen durch Erwärmung und Essigsäurebehandlung verloren hatte, war nach Eindichtung

auf Fibrin, zum Teil auch auf Eiweiß wiederum wirksam, auf Gelatine sogar noch wirksamer.

Attenuation durch	1-proz.					5-proz.					10-proz.				
	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
	Pepsin.														
	mm					mm					mm				
1-stündige Erwärmung bei 60° C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	0	0
5% Ammoniak	0	+	+	+	0	5—4	+	+	—	—	6	+	+	+	—
	Trypsin.														
1-stündige Erwärmung bei 50° C	9	+	+	0	0	14—15	+	+	+	0	18—19	+	+	+	—
1% Essigsäure	30	+	+	0	0	40	+	+	—	0	50	+	+	—	—

b) Eindichtung mittels Eindampfung im Vakuum bei niedriger Temperatur.

Zu diesen Versuchen wurden in obiger Weise attenuierte Pepsin- und Trypsinlösungen und 10-tägige Kulturen von *B. prodigiosum*, *pyocyaneum*, *anthracis* und *Vibrio cholerae* in 2-proz. Gelatinebouillon angewandt. Ein Liter der einzelnen Lösungen und Kulturflüssigkeiten wurde unter Thymolzusatz bei 25—30° C im Vakuum bis auf 50, resp. 20 ccm eingedichtet. Zur Kontrolle wurden zugeschmolzene Kölbchen mit der gleichen Lösung im Vakuumapparat eingeschlossen. Die Verdauung dauerte 10 Tage.

Protease	Bei 30° C erwärmte Protease					Konzentrierte Protease				
	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
	Pepsin.									
	mm					mm				
1 Std. bei 60° C erwärmt	0	0	0	0	0	—	+	—	—	—
24 „ mit 5-proz. NH <sub>3</sub>	0	+	+	0	0	+	+	+	+	—
	Trypsin.									
1 Std. bei 50° C erwärmt	25	+	+	—	0	30	+	+	+	0
1-proz. Essigsäure	14	+	+	0	0	22	+	+	—	—
Bact. pyocyaneum	12	+	+	+	0	40	+	+	+	+
„ prodigiosum	8	+	0	0	0	6	+	0	0	0
Bac. anthracis	6	0	0	0	0	12	+	0	0	0
Vibrio cholerae	14	+	+	+	0	18	+	+	+	—

Der Versuch wurde unter Zusatz unerwärmter Kontrollen wiederholt (s. folgende Tabelle).

Ergebnisse: Aus der ersten Tabelle ersehen wir, daß Pepsinlösungen durch Steigerung der Konzentration um 10-, 20-, 50mal die infolge der Erwärmung oder Ammoniakbehandlung verlorenen Vermögen zum Teil wieder gewannen; Trypsinlösungen erhielten das serolytische Vermögen zurück und zeigten ein viel stärkeres glutinolytisches Vermögen.



Protease	Kontrollen										Konzentrierte Proteasen				
	Unerwärmte Proteasen					Bei 30° C erwärmte Proteasen									
	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
Pepsin.															
1 Std. bei 60° C erwärmt	mm	0	0	0	0	mm	0	0	0	0	mm	0	+	0	0
24 „ mit 5% Ammoniak	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Trypsin.															
1 Std. bei 50° C erwärmt	21	.	0	0	0	19	+	—	0	0	27	+	—	0	0
1-proz. Essigsäure	18	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bact. pyocyaneum	17	+	+	0	0	15	+	0	0	0	25	+	+	0	0
„ prodigiosum	11	+	+	+	+	10	+	+	0	0	10	+	+	0	0
Bac. anthracis	9	+	0	0	0	5	0	0	0	0	6	0	0	0	0
Vibrio cholerae	15	+	+	0	0	15	+	+	+	0	16	+	+	+	—

Die Kulturflüssigkeit von *Bact. pyocyaneum*, *prodigiosum*, *Bac. anthracis* und *Vibrio cholerae* hatten nach der Eindichtung im Vakuum ein stärkeres glutinolytisches Vermögen; bei *B. pyocyaneum* und *Vibrio cholerae* nahm das serolytische Vermögen auch zu und erschien eine Spur von albumolytischem Vermögen; bei *Bact. prodigiosum* und *Bac. anthracis* steigerte sich das fibrinolytische Vermögen.

Weniger klar sind die Resultate der zweiten Versuchsreihe, denn, obwohl eine Steigerung des glutinolytischen Vermögens beinahe überall eintrat, nahmen die übrigen proteolytischen Fähigkeiten nur bei *B. pyocyaneum* und *Vibrio cholerae* zu. Diese Unterschiede können vielleicht auch von einer zu hoher Temperatur oder zu langer Eindampfung oder zu starker Konzentration der Verdauungsprodukte oder verschiedener Reaktion der Mischung usw. herrühren.

#### Kapitel XVII.

##### Verhalten der proteolytischen Partialvermögen eines Enzympräparates gegenüber natürlichen Antienzymen.

10 ccm 1-proz. Phenoltrypsins oder 1:500 Thymolsalzsäurepepsins wurden mit 2,1, 0,5, 0,2, 0,1 ccm Pferdenormalserum oder Eiweiß vermischt, dann in üblicher Weise neben Kontrollen ohne Antifermente geprüft. Die Gelatineproben standen bei 20° C, die übrigen bei 37° C; die Verdauung dauerte 10 Tage (s. folgende Tabelle).

Ergebnisse: 1) Es gelingt nicht, durch Zusatz natürlicher Antienzyme, wie Normalserum und Eiweiß, Trypsin und Pepsin des kaseino-, fibrino- und glutinolytischen Vermögens unter Schonung des sero- und albumolytischen Vermögens zu berauben. Blieb das fibrino- und kaseinolytische Vermögen erhalten, so ging auch das glutinolytische Vermögen nicht zugrunde.

2) Eiweiß zeigt, in Bestätigung früherer Erfahrungen, eine stärkere antitryptische Wirkung als Normalserum.

		Trypsin					Pepsin			
		Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
		mm								
Serum	2 ccm	25—25	0	0	0	0	0	0	0	0
	1 "	30—29	0	0	0	0	0	0	0	0
	0,5 "	32—31	0	0	0	0	0	0	0	0
	0,3 "	35—33	—	—	0	0	+	—	0	0
	0,2 "	36—38	+	+	0	0	+	+	—	0
	0,1 "	42—42	+	+	0	0	+	+	+	—
Eiweiß	2 ccm	0—0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1 "	0—0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0,5 "	0—0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0,3 "	5—5	—	—	0	0	—	—	0	0
	0,2 "	7—7	—	—	0	0	+	+	0	0
	0,1 "	10—11	+	+	0	0	+	+	—	—
Kontrolle		45—46	+	+	0	0	+	+	+	—

## Kapitel XVIII.

## Ueber den Nachweis der spezifischen Partialproteasen mittels des Pollakschen Antikörpers.

Schon 1890 zeigte ich, daß Trypsin durch Erwärmung oder Säurebehandlung das fibrinolytische Vermögen unter Schonung des glutinolytischen vollständig einbüßen kann<sup>1)</sup>. Pollak hat diese Beobachtung bestätigt, er nimmt aber die Anwesenheit zwei verschiedener Enzyme im Trypsin an; Ascoli und Neppi haben sich dagegen nach eingehender Prüfung der Sachlage an meine Anschauung angeschlossen.

Nach Pollak geht auf 70—100° C erwärmtes Trypsin in einen besonderen antiglutinolytisch, aber serolytisch noch wirksamen Antikörper über. Verdünnt man Trypsinlösung oder Pankreassaft mit derselben gekochten und filtrierten Lösung oder Saft, so tritt eine starke antiglutinolytische Wirkung zum Vorschein. Es seien hier 2 Schlußtabellen von Pollak wiedergegeben:

## Versuch I. Wässriger Pankreasauszug. Dauer 16 Stunden.

				Serum	Gelatine
				5 mm	6 mm
2 ccm	+ 2 ccm	dest. Wasser		4	3,5
2 "	+ 2 "	desselben gekochten Pankreassaftes		9	5,5
2 "	+ 4 "	dest. Wasser		3,5	2
2 "	+ 4 "	gekochten Pankreassaftes		3	4
2 "	+ 8 "	dest. Wasser		2	1
2 "	+ 8 "	gekochten Pankreassaftes		4	9
1 "	7-proz. Grublerschen Trypsins	+ 4 ccm Wasser		4	2,5
1 "	7- " "	" + 4 " gekochten Pankreassaftes		3	7,5
1 "	7-proz. Grublerschen Trypsins	+ 8 ccm Wasser		3	Spuren
1 "	7- " "	" + 8 " gekochten Pankreassaftes			

1) Fermi, Cl., I fermenti peptici e diastatici dei microorganismi. (Giorn. d. R. Acad. di Med. 1890. No. 1 e 2.)

## Versuch II. Trypsin Grübler. Dauer 16 Stunden.

				Serum	Gelatine
				7 mm	10 mm
4 ccm Trypsin	+	2 ccm Wasser			
4 "	+	1 " Pferdeserum			
4 "	+	2 "		5.5 "	5 "
4 "	+	3 "		4.5 "	2.5 "
4 "	+	4 "		2 "	1 "
4 "	+	4 "		0 "	0 "

Aus diesen Befunden schließt Pollak, es entstehe bei der Erwärmung von Trypsin ein die Gelatineverflüssigung hindernder, aber die Serumverflüssigung beinahe gar nicht hemmender Antikörper. Seine Entstehung soll nur bei 10 Minuten langer Erwärmung des Trypsinpräparates auf 70° erfolgen; 5 Minuten lange Kochung soll den Antikörper nicht zerstören. Dieser Stoff dürfte auch nicht spezifisch sein, weil der erwärmte Ochsenpankreasassaft gegen Pferdetrypsin wirksam ist (2. Tabelle).

Dazu muß ich bemerken, daß für die Gelatineprobe ein einziges Röhrchen anzuwenden, wie es bei Pollak üblich war, unstatthaft ist, weil die Höhe der verflüssigten Schicht auch bei identischen Proben schwanken kann; es müssen wenigstens 3–5 Röhrchen nebeneinander angestellt werden<sup>1)</sup>.

Außerdem nimmt Pollak das Vorkommen von Trypsinpräparaten an, welche Serum besser wie Gelatine auflösen, weil in einem Röhrchen die verflüssigte Schicht bei Serum 9 mm, bei Gelatine 7.5 mm maß. Dieser einzigen Beobachtung kann kein großer Wert beigemessen werden, umso mehr als ich bei tausend ähnlichen Versuchen immer das Gegenteil beobachtete und es außer Zweifel steht, daß Gelatine Trypsin schon bei einer Verdünnung von 1:100 000 oder 1:500 000 anzeigen kann, während Blutserum erst von 1:1000 Trypsin angegriffen wird (l. c.).

Drittens waren die von Pollak angewandten 4–7-proz. Trypsinlösungen zu hoch konzentriert, um die Beurteilung derartiger feiner Unterschiede zu erlauben.

Schließlich war eine Wiederholung des Versuches mit anderweitigen gekochten Eiweißkörpern erwünscht, um die Möglichkeit einer physikalischen Fixierung (Adsorption) an Eiweißstoffe auszuschließen. Das haben wir versucht, um die Existenz der Pollakschen Antikörper festzustellen.

A. Angeblich antiglutinolytisches Vermögen von gekochtem Trypsin gegenüber frischem Trypsin im Vergleich mit verschiedenen Eiweißkörpern.

Versuch 1. Auf 5-proz. Sodagelatine in Reagensgläsern wurde 1 ccm Merckschen Trypsins (1:400 000) gegossen und 3×10 mm dicke Eiweißwürfel oder 0.25 ccm Eiweißlösung zugesetzt. Nach 10 Tagen wurde die Höhe der verflüssigten Gelatineschicht gemessen (s. folgende Tabelle).

Pepton, Serumwürfelchen und Fließpapier hatten eine höhere fixierende und antitryptische Wirkung als gekochtes Trypsin; von einem antitryptischen Vermögen dieses letzteren ist daher kaum zu reden. Rohe, gelöste Eiweißkörper hatten eine stärkere antitryptische Wirkung als koagulierte.

<sup>1</sup> Fermi, Cl., Metodi vecchi e nuovi nella ricerca e nello studio degli enzimi proteolitici. Giorn. d. Soc. R. di Ig. 1909.

	Gekochtes Trypsin	Pepsin	Pepton	Flüssige Gelatine	Würfel von Gelatine	Kasein	Flüssiges Serum	Würfel von Serum	Flüssiges Eiweiß	Würfel von Eiweiß	Lösung trockenen Eiweißes	Fließpapier	Kontrolle: Trypsin
	Millimeter												
1. Probe	7	7	6	3	10 $\frac{1}{2}$	10	.	6	.	10	3	3	16
2. Probe	7	12	.	.	16	.	4	.	7	.	3 $\frac{1}{2}$	.	16

Versuch 2. Zu 3-proz. Sodagelatine wurden 1 ccm 1-proz. Merckschen Trypsins und entweder 0,15 ccm 20-proz. Eiweißlösungen oder 3×10 mm große Eiweißwürfelchen zugesetzt. Die verschiedenen Eiweißkörper wurden entweder allein oder zusammen mit gekochtem Trypsin geprüft. Die Messung der verflüssigten Gelatineschicht erfolgte nach 5 und 10 Tagen.

		Pepsin	Pepsin + gekochtes Trypsin	Pepton	Pepton + gekochtes Trypsin	Flüssige, 10-proz. Gelatine	Flüssige, 10-proz. Gelatine + gek. Trypsin	Feste, 10-proz. Gelatine	Feste, 10-proz. Gelatine + gekochtes Trypsin	Geronnenes Blutserum	Geronnenes Serum + gekochtes Trypsin	Kontrolle, gekochtes Trypsin	Kontrolle, rohes Trypsin
		Millimeter											
1. Probe	nach 5 Tagen	4,5	3,5	3,5	2,5	3,5	3,5	4	4	4	4	0	4
	„ 10 „	9,5	10	10,5	13	9	9,5	11	9,5	10,5	10	0	11
2. Probe	nach 5 Tagen	3	4,5	3	3	4	3,5	4	4	4,5	3,5	0	5
	„ 10 „	11	11	10,5	10	9,5	9,5	11	9,5	10	9	0	11

Die einzelnen Eiweißkörper hatten dieselbe antitryptische Wirkung allein wie bei Gegenwart von gekochtem Trypsin.

Rohe Eiweißlösungen hatten eine stärkere antitryptische Wirkung als gekochte. Vielleicht fixieren gelöste Eiweißstoffe mehr Enzymmoleküle als geronnene.

Versuch 3. 5 ccm 1-prom. Trypsins wurden mit je 0,5 g Kasein A, Kasein B und Fließpapier versetzt; nach 24 Stunden (bei 37° C) wurde je 1 ccm dieser Trypsinlösungen unter Verdünnung bis auf 1:5000 auf Sodagelatine einwirken lassen; nach 1, 2, 3, 4, 5, 13, 21, 29, 39 Tagen wurde die Verflüssigung gemessen.

	Gelatineverflüssigung nach Tagen								
	1	2	3	4	5	13	21	29	39
	Millimeter								
Kasein A	0	0,75	1,5	2	2,5	6	9	12,5	18
Kasein B <sup>1)</sup>	0	0	0,25	0,5	1	3,5	4,5	7,5	13
Fließpapier	0	0	1	1,5	2,0	6	14	22	32
Kontrolle	1	3	3,5	4,5	5,5	17	22	27,5	37

Kasein absorbierte einen Teil der Glutrinase, und zwar Kasein A etwa die Hälfte, Kasein B etwa  $\frac{2}{3}$ . Auch Fließpapier fixierte Trypsin, aber in viel geringerem Maße.

1) Dieses Kasein war fester als Kasein A.

Da Kasein das gelatinolytische Enzym so stark absorbierte, verliert die Annahme an Wahrscheinlichkeit, Glutinasen und Kaseasen seien selbstständige Enzyme.

Versuch 4. Auf 1 ccm 3-proz. Sodagelatine wurden 0,5 ccm Merckschen Trypsins (1:25 000) und 0,5 ccm 20-proz. Eiweißlösung gegossen. Nach 5 Tagen war die Verflüssigung:

	Gekochtes Trypsin	Pepsin	Pepton	Trockenes Eiweiß	Phenoltrypsin
	Millimeter				
1. Probe	5,5	5	4	3,5	8,5
2. Probe	6	6,5	4	4	7,5

Gekochtes Trypsin wirkte weniger antitryptisch wie Pepsin, Pepton und getrocknetes Eiweiß.

Versuch 5. Auf 1 ccm 3-proz. Sodagelatine wurde 1 ccm einer Mischung zu gleichen Teilen von Merckschem Trypsin (1:100 000 oder 1:200 000) und Eiweißlösung gegossen, nachdem die Mischungen 4 Tage bei 30° C verweilt hatten. Die Verflüssigung wurde nach 2 Tagen gemessen.

Trypsin	Gekochtes Trypsin	Pepsin	Pepton	Trockenes Eiweiß	Kontrolle (Trypsin)
	Millimeter				
1:200 000	3	4	4	6	14,5
1:100 000	4	5	4,5	6,5	16

Auch hier wirkte Trypsin etwa gleich stark antitryptisch wie die übrigen Eiweißkörper.

#### B. Vermeintliche antiserolytische Wirkung von gekochtem Trypsin gegenüber frischem Trypsin im Vergleich mit verschiedenen Eiweißkörpern.

Versuch 6. 1 ccm mit 20-proz. Ammoniak versetzten, bei 70° C halbstündig erwärmten Ochsen-serums wurde mit 1 ccm 1-proz. Merckschem Trypsin und 1—2 Eiweißkörpern versetzt; nach 5 Tagen wurde die Verflüssigung gemessen.

Ammoniakserum	10 mm
„ + gekochtes Trypsin	10 „
„ + Pepsin	„
„ + Pepsin und gekochtes Trypsin	13 „
„ + Pepton	14 „
„ + Pepton und gekochtes Trypsin	17,5 „

Gekochtes Trypsin hatte beinahe dieselbe antiserolytische Wirkung wie Pepsin und Pepton.

Versuch 7. Auf Ammoniakserum wurde eine Mischung von 0,5 ccm 1-prom. Merckschen Trypsins und 0,5 ccm 15 Minuten gekochter Eiweißkörper 5 Tage einwirken lassen.

	1. Probe	2. Probe
Gekochtes Trypsin	6,5 mm	5 mm
Pepsin	6 „	6 „
Pepton	4 „	4 „
Trockenes Eiweiß	8 „	6 „
Phenoltrypsin (Kontrolle)	9 „	8 „

Gekochtes Trypsin hatte beinahe die gleiche antiserolytische Wirkung wie gekochtes Pepsin, Pepton und Eiweiß.

Versuch 8. Die Mischungen von Trypsin und Eiweißstoff wurden nach 4-tägigem Aufenthalt bei 30° C auf 1 ccm natürlichen oder mit 15-proz. Ammoniak versetzten Ochsen-serums einwirken lassen. Nach 5 Tagen beobachteten wir folgende Verflüssigung:

		Gekochtes Trypsin	Pepsin	Pepton	Trockenes Eiweiß	Kontrolle
		Millimeter				
Ammoniak-serum	1. Probe	7,5	11	9,5	16	20
	2. „	14	10	12	17	19
Nat. Serum	1. Probe	0	0	0	0	0
	2. „	0	0	0	0	0

Gekochtes Trypsin hatte auch in diesem Falle beinahe dieselbe antiserolytische Wirkung wie Pepsin und Pepton.

Versuch 9 war eine Wiederholung des vorigen Versuches, nur daß die Verflüssigung erst nach 7 Tagen gemessen wurde.

	Gekochtes Trypsin	Pepsin	Pepton	Trockenes Eiweiß	Kontrolle
	Millimeter				
Ammoniakserum	8	5	3	6	8

Bei diesem Versuche zeigte gekochtes Trypsin eine viel geringere antitryptische Wirkung als Pepsin, Pepton und Lösung von getrocknetem Eiweiß.

#### C. Vermeintliche antialbumolytische Wirkung von gekochtem Trypsin gegenüber frischem Trypsin im Vergleich mit verschiedenen Eiweißstoffen.

Versuch 10. Auf 1 ccm geronnenen, mit 20-proz. Ammoniak versetzten Eiweißes wurde 1 ccm einer Mischung von Trypsin und 2-proz. Eiweißlösung einwirken lassen; die Eiweißlösungen waren 15 Minuten gekocht und die Mischungen 4 Tage bei 30° C gehalten worden. Die Verflüssigung wurde nach 9, 17 und 37 Tagen gemessen.

	Gekochtes Trypsin			Pepsin			Pepton			Lösung trockenen Eiweißes		
	nach Tagen											
	9	17	37	9	17	37	9	17	37	9	17	37
	Millimeter											
Ammoniakeiweiß	0	2	6	2	.	5	2,5	9	15	3,5	7	10

Gekochtes Pepsin hatte eine stärkere antialbumolytische Wirkung als gekochtes Trypsin.

#### D. Vermeintliche antifibrinolytische Wirkung von gekochtem Trypsin gegenüber frischem Trypsin im Vergleich mit verschiedenen Eiweißkörpern.

Versuch 11. In 5 ccm Sodatrypsin (Trypsin 1, Soda 2, Phenol 5, Wasser 1000) resp. sodafreien Gräblerschen Trypsins legten wir einen

Flocken Fibrin neben 0,5—1 ccm Eiweißlösung oder Eiweißwürfelchen. Die Verdauung dauerte 3 Tage bei 30° C.

	Eiweiß				Serum				Gelatine				Kontrolle (Trypsin)				
	fest		flüssig		fest		flüssig		fest		flüssig						
	Kubikzentimter																
	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1					
Trypsin mit Soda	—	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	—	—	—	++++
Trypsin ohne Soda	—	—	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	—	—	—	++++

Eiweiß, Serum und Gelatine hatten auch eine antifibrinolytische Wirkung auf Trypsin. Diese Wirkung war bei rohen gelösten Eiweißkörpern stärker als bei geronnenen. Gelatine hatte eine geringere Wirkung als Serum und Eiweiß.

Der Versuch wurde wiederholt, indem Fibrin erst 24 Stunden nach der Herstellung der Mischung zugesetzt wurde.

	Eiweiß				Serum				Gelatine				Kontrolle (Trypsin)
	fest		flüssig		fest		flüssig		fest		flüssig		
	Kubikzentimeter												
	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	
	Trypsin mit Soda	++	++	++	—	++	++	00	00	++	++	++	
„ ohne Soda	++	++	++	—	++	++	00	00	++	++	++	++	++++

Die Resultate stimmen mit denen des vorigen Versuches überein. Die antitryptische Wirkung besteht wahrscheinlich in der Adsorption von Trypsinmolekülen seitens des Eiweißkörpers; darum entfalten gelöste Eiweißkörper eine stärkere antifibrinolytische Wirkung als geronnene.

Versuch 12. Auf 5 ccm einer Trypsinlösung, welche in einem Liter 2 g Soda, 1 g Phenol und 1 g Grublerschen Trypsins enthielt, wurde 0,5—1 ccm 10-proz. Gelatine oder Serum, Eiweiß in gelöstem resp. geronnenem Zustande, und eine Fibrinflocke gelegt; daneben wurde sodafreies Trypsin in gleicher Weise geprüft. Die Verdauung dauerte 3 Stunden bei 30° C; dann wurde die ganze Reihe wiederholt, indem Fibrin erst 24 Stunden nach der Herstellung der Mischung zugesetzt wurde (B).

												Kontrolle (Trypsin)
Gelatine				Serum				Eiweiß				
fest		flüssig		fest		flüssig		fest		flüssig		
Kubikzentimeter												
0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	

## A.

Trypsin mit Soda	++	++	++	—	++	++	00	00	—	+	+	00	00	++++
„ ohne „	++	+	0	—	++	++	00	00	—	—	+	00	00	++++

## B.

Trypsin mit Soda	++	—	+	+	++	++	00	00	++	++	++	—	++++	++
„ ohne „	++	++	++	++	++	++	00	00	++	++	++	—	++++	++

Ergebnisse. 1) Geronnenes Eiweiß und Blutserum verhinderten die Fibrinverdauung nicht, war Fibrin gleich nach der Herstellung der Mischung zugesetzt, d. h. als Trypsin noch nicht fixiert worden war.

2) Gelöstes Eiweiß und Serum fixierten so viel Fibrinase, daß Fibrin ganz intakt zurückblieb; das spricht gegen eine spezifische Adsorption seitens des angewandten Eiweißkörpers und gegen eine Spezifität der Proteasen überhaupt.

3) Gelöste und feste Gelatine verhinderten die Fibrinauflösung nicht, obwohl Fibrin bei Gegenwart flüssiger Gelatine weniger stark angegriffen wurde als bei Gegenwart fester Gelatine.

4) Tauchte man Fibrin in die Trypsinlösung, 5 oder 24 Stunden nachdem Trypsin in Berührung mit Serum oder Gelatine oder geronnenem Eiweiß gekommen war, so ging in beiden Fällen die Fibrinverdauung mit gleicher Schnelligkeit vor sich. Setzten wir Fibrin 5 Minuten nach der Herstellung der Trypsineiweißmischung zu, so blieb es bei Gegenwart des rohen Eiweißes unverändert; es wurde aber angegriffen, wenn es erst 24 Stunden nach der Herstellung der Mischung mit Trypsin in Berührung kam. 1 ccm roher Eiweißlösung hatte allerdings eine stärkere antifibrinolytische Wirkung als 0,5 ccm.

#### E. Antiglutinolytisches Vermögen von inaktiviertem Pankreassaft und anderen Eiweißlösungen.

Versuch 13. Als Substrat diente entweder 1 ccm 10-proz. Neutralgelatine oder 1 ccm bei 70° C geronnenen, natürlichen Ochsen-serums. Als Enzym wurde 1 ccm frischen Pankreassaftes angewandt, welcher entweder mit 0,5 ccm 0,5-proz. Phenols oder 0,5 ccm roher, resp. 10' bei 80° C erwärmter, daher antienzymatisch wirkender Auszüge aus Pankreas, Nieren und Milz versetzt wurde. Alle Auszüge waren mit 200 ccm 1-proz. Phenols hergestellt worden; für jede Kombination stellten wir je 5 Proben an und maßen die Verflüssigung des Substrates nach 6 Tagen:

	Gelatine					Serum				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
	Millimeter									
1) Frischer Pankreassaft + Phenol	9	9	8	8	10	7	6,5	6	6	6
2) Frischer Pankreassaft + erwärmter Pankreassaft	7	8	7,5	8	8	7	7	8	7	7
3) Frischer Pankreassaft + frischer Nierensaft	9	10	9	9	9	5	6,5	6	7	6
4) Frischer Pankreassaft + erwärmter Nierensaft	9	9,3	8	9	8	5,5	7	6	7	6,5
5) Frischer Pankreassaft + frischer Milzsaft	8	9	9	8,5	9	5	7	8	8	7
6) Frischer Pankreassaft + erwärmter Milzsaft	8	9	9	9	10	6	7	9	8	8

Ergebnisse. 1) Durch 10 Minuten lange Erwärmung bei 80° C denaturierter Pankreassaft hatte auf denselben rohen Saft keinen höheren antiglutinolytischen Einfluß als Nieren- und Milzsaft; er wurde sogar vom Nierensaft übertroffen.

2) Das antiglutinolytische Vermögen des denaturierten Pankreassaftes war keineswegs höher als das antiserolytische Vermögen.

Diese Feststellungen stimmen mit den Beobachtungen von Pollak nicht; im einzelnen wird gezeigt, daß eine stärkere Abnahme der glutinolytischen Wirkung im Vergleich zur serolytischen mit der Annahme zwei verschiedener Eigenschaften eines einzigen Enzymes leicht zu erklären ist.



## Kapitel XIX.

**Trennung der einzelnen Teilvermögen einer Protease durch Fixation an entsprechende Eiweißstoffe.**

Obwohl die Eiweißkörper ebenso wie eine Reihe anderer Stoffe Enzyme mechanisch, d. h. passiv fixieren können, dürfte doch eine spezifische Adsorption der entsprechenden Protease in höherem Maße stattfinden, wenn ein entsprechend spezifisches Enzym vorhanden wäre. So dürfte z. B. Glutrinase besonders von Gelatine, Fibrinase von Fibrin, Kasease von Kasein usw. adsorbiert werden.

Aus den im vorigen Kapitel angeführten Versuchen ergeben sich schon mehrere dagegen sprechende Tatsachen: Aus Versuch 1 erhellt z. B., daß flüssige Gelatine weniger Glutrinase als Serum und Lösung von getrocknetem Eiweiß fixiert; feste Gelatine adsorbierte keinen größeren Bruchteil von Glutrinase als Kasein und Eiweiß.

Versuch 2 zeigt, daß flüssige und feste Gelatine weniger oder ebensoviele Glutrinase als Serum, Pepsin und Pepton fixiert; ebenfalls zeigt Versuch 10, daß Albumase von Eiweiß weniger als von Pepsin, Pepton und inaktiviertem Trypsin adsorbiert wurde.

Schließlich wurde auch ein besonderer Versuch angestellt, wo auf 1 ccm 5-proz. Gelatine resp. geronnenen Blutserums 1 ccm 1‰ Trypsin gegossen und Würfelchen von Gelatine, Serum und Eiweiß in steigender Zahl gelegt wurden. Die Verdauung dauerte 10 Tage.

		Gelatinewürfel					Serumwürfel					Eiweißwürfel					Kontrolle
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
		Millimeter															
Gelatineproben	1.	19	19,5	18	18	17	19	17	12	11	10	18	15	10	10	9	20
	„ 2.	20	19	19	18	17	18	17,5	12	11	10,5	17	14	11	10	9,5	21
Serumproben	1.	6	5,5	5	4	4	5	4	4	3,5	3	5	4	3	3	2,5	7
	„ 2.	6	9	5	5	4	5	4,5	4	3	3	5	4	3,5	3,5	4,5	8,5

Wäre Trypsin ein Gemisch von Glutrinase, Fibrinase, Albumase usw., so sollte Glutrinase von Gelatine stärker als von Serum fixiert werden; in der Tat war aber die Glutrinaseadsorption bei Serum stärker als bei Gelatine.

## Kapitel XX.

**Trennung der einzelnen Vermögen einer Protease durch Impfung.**

In früheren Arbeiten habe ich <sup>1)</sup> gezeigt, daß subkutan, in die Blutgefäße und Bauchhöhle eingepfropft Trypsin oder Pepsin nach 5–10 Minuten bei warmblütigen, nach 30–60 Minuten bei kaltblütigen Tieren verschwinden, indem sie zum Teil von den Geweben neutralisiert oder zersetzt, zum Teil mit dem Harn entleert werden. Ich versuchte nun, ob auf diesem Wege eine Trennung der angeblich spezifischen Proteasen zu erzielen ist, indem ich Pepsin und Trypsin subkutan, in die Blutbahn, die Bauchhöhle, resp. direkt in die Organe von homothermen und heterothermen Tieren einführte.

1) Fermi, Cl., Weitere Untersuchungen über tryptische Enzyme. (Arch. f. Hyg. Bd. 14. p. 44); Fermi e Pernossi, Studi sui gli enzimi. (Ann. Ist. Ig. di Roma. (2.) Vol. 4. p. 139–141.)

### A. Subkutane, intravenöse und intraperitoneale Impfung von Trypsin und Pepsin bei Hunden und Kaninchen.

Versuchsmethode. 2-proz. Pepsin- und Trypsinlösungen wurden bei Hunden und Kaninchen subkutan (25–50 ccm), in die Jugularvene (10–50 ccm) und die Bauchhöhle (50–100 ccm) eingepflegt; nach 5 Stunden suchten wir beide Enzyme in der Bauchhöhle und im Harn.

	Pepsin					Trypsin				
	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
a) Hunde										
Peritonealflüssigkeit	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0
Harn	0	0	+	+	–	0	0	+	+	0
Kontrollen	.	.	+	+	+	+	+	+	–	0
b) Kaninchen										
Peritonealflüssigkeit	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Harn	0	0	+	+	–	0	0	+	+	0
Kontrollen	.	.	+	+	+	+	+	+	–	0

Ergebnisse: 1) Nach subkutaner, intravenöser oder intraperitonealer Impfung verschwand in keinem Falle das glutinolytische unter Beibehaltung des fibrino- und kaseinolytischen Vermögens.

2) Im Harn fanden sich beide Enzyme, in der Peritonealflüssigkeit nur Pepsin wieder.

3) Von beiden Enzymen blieben nur das fibrino- und kaseinolytische, vom Trypsin auch das gelatinolytische Vermögen erhalten; die sero- und albumolytische Fähigkeit war bereits verschwunden.

### B. Impfung beider Enzyme in die Organe.

Versuchsmethode. In verschiedene Organe eines frisch getöteten Hundes wurden je nach der Größe des Organes 5, 10, 20, 30 ccm einer 2-proz. Enzymlösung eingepflegt. Darauf wurden die filtrierten Auszüge der Organe auf ihre proteolytische Wirkung hin untersucht.

	Trypsin						Pepsin			
	Gelatine nach			Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Fibrin	Kasein	Serum
	5 Min.	5 St.	24 St.							
Gehirn	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Herz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lunge	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Leber	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Milz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Niere	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nebennieren	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Speicheldrüsen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muskeln	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Ergebnisse: 1) In keinem Falle bewahrten Pepsin und Trypsin das fibrino- und kaseinolytische unter Verlust des glutinolytischen Ver-

mögens bei der Impfung in verschiedene Organe eines frisch geschlachteten Hundes auf.

2) Trypsin blieb nach Einführung in das Gehirn, die Lungen, Milz, Nieren und Muskel erhalten; es verschwand in Berührung mit dem Herzen, Leber, Nebennieren und Speicheldrüsen.

3) Vom Pepsin blieb nur das fibrinolytische Vermögen in der Milz und den Nieren erhalten.

Versuch 2. Die 2-proz. Pepsintrypsinlösung wurde in die verschiedenen Organe eines vor 5 Stunden getöteten Hundes eingeimpft, dann wurden je 3 würfelförmige Stücke des Organes auf Gelatineplatten, resp. in 2-prom. Salzsäure gelegt.

	Eingeimpfte Menge in Kubikzentimeter	Gelatineplatten nach						Salzsäureproben			Peptonproben nach		
		5 Min.		6 Std.		24 Std.		1.	2.	3.	5 Min.	6 Std.	24 Std.
		Prüfung nach Stunden	Ergebnis	Prüfung nach Stunden	Ergebnis	Prüfung nach Stunden	Ergebnis						
Gehirn	30	19	+	.	0	.	.	0	0	0	0	0	0
Herz	30	.	0	.	0	.	.	+	0	0	0	0	0
Lunge	20	19	+	13	+	.	.	0	0	0	0	0	0
Leber	20	.	0	.	0	.	.	— +	+	0	0	+	0
Milz	20	19	+	13	+	19	+	+	0	0	0	0	0
Niere	20	19	+	13	+	.	.	0	0	0	0	0	0
Muskel	20	19	+	13	+	19	+	0	0	0	0	0	0
Speicheldrüsen	10	.	0	.	0	.	0	0	0	0	0	0	0
Nebennieren	5	.	0	.	0	.	0	0	0	0	0	0	0
Darmwand	10	19	+	.	0	.	.	0	0	0	0	0	0

Diese Beobachtungen sprechen auch gegen eine spezifische Wirkung der proteolytischen Enzyme.

### C. Einführung beider Enzyme in heterotherme Tiere (Frösche).

Versuchsmethode. 20 Frösche wurden mit je 5 ccm einer 2-proz. Trypsinpepsinmischung subkutan geimpft und getötet; dann bereiteten wir einen wässrigen Auszug aus dem ganzen Tier und nach weiteren 5—24 Stunden prüften wir seine proteolytische Wirkung.

	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß
Pepsin	— —	— —	— —	0 0	0 0
Kontrolle	— —	+	+	+	+
Trypsin	+	—	—	0 0	0 0
Kontrolle	+	+	+	+	—

In keinem Falle verloren Trypsin und Pepsin das glutinolytische unter Erhaltung des fibrinolytischen und kaseinolytischen Vermögens nach Impfung in heterotherme Tiere; allerdings ging das sero- und albumolytische Vermögen verloren.

## Kapitel XXI.

### Trennung der angeblichen Partialproteasen mittels spezifischer Sera.

Besitzt das aus nur mit glutino-, fibrino- und kaseinolytisch wirkendem Trypsin behandelten Tieren gewonnene Serum nur antiglutino-,

antifibrino- und antikaseinolytische, aber keine antisero- und antialbumolytische Wirkung?

**Versuchsmethode.** Ein Hund wird einen Monat lang mit 1 ccm bei 56° C 2 Stunden erwärmten, Gröblerschen Trypsins (1:200) + 1 Proz. Phenol täglich geimpft. Nach weiteren 10 Tagen wird Blut entlassen, um das Serum zu bereiten. Röhrchen mit der üblichen Phenol-sodagelatine und 1 ccm Trypsin (1:5000) werden mit 0,2—0,3—0,5 ccm Serum aus behandeltem, resp. unbehandeltem Hunde versetzt. Reagensgläser mit 5 ccm 5-proz. Trypsins und Eiweißwürfelchen werden mit 0,4—0,8 und 1 ccm beider Sera versetzt. Die Gelatineproben lagen bei 20° C, die übrigen bei 37° C.

ccm Serum	Gelatine			Fibrin			Kasein			Serum			Eiweiß		
	0,2	0,3	0,5	0,4	0,8	1	0,4	0,8	1	0,4	0,8	1	0,4	0,8	1
	Millimeter														
Normales Hundeserum	6—6	6—7	7—8	+	+	+	+	—	—	0	0	0	0	0	0
Trypsin serum	3—5	4—4	6—6	+	+	+	+	—	—	0	0	0	0	0	0
Kontrollen:															
a) normales Trypsin	7—8	7—8	.	+	+	.	.	+	+	.	+	+	.	—	—
b) teilweise inaktiviertes Trypsin	.	6—6	.	+	+	.	.	—	+	.	0	0	.	0	0

Serum aus mit attenuiertem, nur glutino-, fibrino- und kaseinolytisch wirkendem Trypsin geimpften Hunden hatte eine schwächere antiglutino-, antifibrino- und antikaseinolytische als antisero- und antialbumolytische Wirksamkeit, d. h. gerade das Gegenteil, als es sich aus einer spezifischen Wirkung hätte ergeben dürfen.

## Kapitel XXII.

### Beziehungen zwischen Komplementfällung, -ablenkung und spezifischer Proteasenwirkung.

Bei diesen Versuchen wurde ich von meinem Hilfsarbeiter, Dr. F. M. Marras, eifrig unterstützt.

I. Komplementfällung. Wir bereiteten folgende Gemische:

- |   |    |   |
|---|----|---|
| A | 1) | Unerwärmtes, glutino-, fibrino-, kaseino- und serolytisch wirkendes Trypsin + Serum aus mit demselben Trypsin behandelten Hunden. |
|   | 2) | Unerwärmtes Trypsin wie oben + Serum aus mit 1 Stunde bei 50° C erwärmtem Trypsin behandelten Hunden.                             |
|   | 3) | Unerwärmtes Trypsin wie oben + normales Hundeserum.   |
| B | 1) | Wie oben erwärmtes, nur glutinolytisch wirkendes Trypsin + Serum aus mit unerwärmtem Trypsin behandelten Hunden.                  |
|   | 2) | Erwärmtes Trypsin + Serum aus mit dem gleichen Trypsin behandelten Hunden.  |
|   | 3) | Erwärmtes Trypsin + normales Hundeserum.  |
| C | 1) | Auf 100° C erhitztes, inaktiviertes Trypsin + Serum aus mit unerwärmtem Trypsin behandelten Hunden.                               |
|   | 2) | Inaktiviertes Trypsin + Serum aus mit bei 50° C attenuiertem Trypsin behandelten Hunden.  |
|   | 3) | Inaktiviertes Trypsin + normales Hundeserum.  |

In allen Röhrchen erhielten wir Fällung, während die Kontrollen mit Normalserum klar blieben.

II. Komplementablenkung wurde mit aktivem und durch Erwärmung inaktiviertem Trypsin, mit Serum aus mit unerwärmtem

ebensogut wie mit bei 50° C erwärmten Trypsin behandelten Hunden erhalten.

Schlußfolgerungen: Wäre Trypsin ein Gemisch mehrerer Proteasen, so sollten die von der hypothetischen Glutinasen (bei 50° C erwärmtem Trypsin) hervorgerufenen Präzipitine nur mit Glutinasen Fällung ergeben, während ein Niederschlag auch mit unerwärmtem Trypsin, d. h. mit der hypothetischen Fibrinase, Kasease, Serase usw. erhalten würde.

2) Aus denselben Gründen sollte das Serum von Hunden, welche nur die hypothetische Glutinasen erhalten hatten, das Komplement in Berührung mit anderen Teilproteasen, d. h. mit unerwärmtem Trypsin nicht ablenken, während eine Ablenkung auch mit diesem erhalten wurde.

### Kapitel XXIII.

**Ist ein bestimmtes Proteasenquantum fähig, die größte Menge verschiedener Eiweißkörper gleichzeitig zu verdauen, die der maximalen Wirksamkeit der einzelnen Partialproteasen entspricht?**

Wären proteolytische Enzyme ein Gemenge verschiedener Partialproteasen, so sollte ein Enzym die Maximalmenge aller entsprechenden Eiweißkörper gleichzeitig verdauen. Wir stellten diesbezügliche Versuche unter Berücksichtigung der Absorptionerscheinungen und der Hemmung wegen Anhäufung der Zersetzungsprodukte an. Ueber die Tragweite der Absorption im Substrate waren wir durch bereits besprochene Erfahrungen orientiert; bezüglich der Zersetzungsprodukte konnten wir keinen Anhalt gewinnen, da eine Dialyse durch Pergamentpapier die Produkte nur langsam und unvollständig zu entfernen gestattet, durch Delarue-Papier aber auch Enzyme entläßt.

Versuchsmethode. 10 Reagensgläser wurden mit 10 ccm 5-proz. Trypsin + 1 Prom. Thymol beschickt. Je 2 Proben erhielten 1—2—3—4—5 g 10-proz. Gelatine. In gleicher Weise stellten wir Proben mit anderen Eiweißkörpern in der üblichen Würfelform und mit 5-prom. Pepsin in 3-prom. Salzsäure an. Nach 5 Tagen wurde abfiltriert und der unverdaute Rückstand gewogen, dann wurde das Filtrat auf andere Eiweißkörper einwirken lassen. Bei den Pepsinfiltraten ergänzten wir die verbrauchte Salzsäure.

Bei einer Spezifität der Proteasen dürften die einzelnen Enzymfiltrate, obwohl sie die ganze zuerst verabreichte Eiweißmenge nicht verdaut hatten, noch imstande sein, die anderen zugesetzten Eiweißkörper zu lösen (s. folgende Tabelle).

Ergebnisse: 1) 10 ccm 5-proz. Trypsins waren nicht imstande:

- a) Nach der Verdauung von 1—5 g Gelatine Kasein, weder Serum noch Eiweiß aufzulösen;
- b) nach der Verdauung von 1—5 g Fibrin Kasein, weder Serum noch Eiweiß aufzulösen;
- c) nach der Verdauung von 1—5 g Kasein Serum noch Eiweiß aufzulösen;
- d) nach der Verdauung von 1—5 g Serum Kasein noch Eiweiß aufzulösen;
- e) nach der Verdauung von 1—5 g Eiweiß Kasein noch Serum aufzulösen.

Allerdings war das Vermögen, einfachere Eiweißkörper aufzulösen, nach Einwirkung auf Kasein, Serum und Eiweiß keineswegs geschwächt.

2) 10 ccm 5-proz. Salzsäurepepsins konnten:

- a) Nach der Verdauung von 1—5 g Gelatine weder Kasein noch Serum noch Eiweiß, wohl aber Fibrin auflösen;
- b) nach der Verdauung von 1—5 g Fibrin weder Kasein noch Serum noch Eiweiß noch Gelatine auflösen;

	von 1 g verdaut	Wirkung des Filtrates auf					von 2 g verdaut	Wirkung des Filtrates auf					von 3 g verdaut	Wirkung des Filtrates auf					von 4 g verdaut	Wirkung des Filtrates auf					von 5 g verdaut	Wirkung des Filtrates auf							
		Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß		Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß		Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß		Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß		Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß			
A. Trypsin.																																	
Gelatine	{ 1. Probe	1,0	+	0	0	0	g	2,0	3,0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	{ 2. Probe	1,0	+	0	0	0	3,0	3,0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
Fibrin	{ 1. Probe	1,0	+	0	0	0	3,0	3,0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	{ 2. Probe	1,0	+	0	0	0	3,0	3,0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Kasein	{ 1. Probe	1,0	+	0	0	0	2,4	3,3	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	{ 2. Probe	1,0	+	0	0	0	2,5	3,25	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Serum	{ 1. Probe	0,8	0	0	0	0	1,7	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	{ 2. Probe	0,75	+	0	0	0	1,75	2,65	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Eiweiß	{ 1. Probe	0,75	+	0	0	0	1,5	2,4	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	{ 2. Probe	0,75	+	0	0	0	1,5	2,3	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
B. Pepsin.																																	
Gelatine	{ 1. Probe	1,0	+	0	0	0	2,0	3,0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	{ 2. Probe	1,0	+	0	0	0	2,0	3,0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Fibrin	{ 1. Probe	1,0	0	0	0	0	2,0	3,0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	{ 2. Probe	1,0	0	0	0	0	2,0	3,0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kasein	{ 1. Probe	0,8	+	0	0	0	1,65	2,0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	{ 2. Probe	1,0	+	0	0	0	2,0	1,7	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Serum	{ 1. Probe	1,0	+	0	0	0	2,0	2,4	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	{ 2. Probe	1,0	+	0	0	0	2,0	2,3	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eiweiß	{ 1. Probe	1,0	+	0	0	0	1,65	2,0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	{ 2. Probe	1,0	+	0	0	0	1,45	2,0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

- c) nach der Verdauung von 1—5 g Kasein weder Serum noch Eiweiß, wohl aber Gelatine und Fibrin auflösen;
- d) nach der Verdauung von 1—5 g Serum weder Kasein noch Eiweiß, wohl aber Gelatine und Fibrin auflösen;
- e) nach der Verdauung von 1—5 g Eiweiß weder Kasein noch Serum, wohl aber Gelatine und Fibrin auflösen.

Ich schließe daraus, daß eine bestimmte Proteasenmenge nach Einwirkung auf einen Eiweißkörper keineswegs imstande ist, anderweitige Eiweißstoffe anzugreifen, wie es bei einer Spezifität der Proteasen zu erwarten wäre.

#### Kapitel XXIV.

#### Hängt die Bildung einzelner proteolytischer Vermögen von der Gegenwart der entsprechenden Eiweißkörper ab?

Um diesen Punkt zu klären, versuchten wir folgende Fragen zu beantworten:

- A. Gibt es Proteasen aus streng fleischfressenden Tieren, die auch Pflanzeneiweiß anzugreifen vermögen?
- B. Gibt es Proteasen aus streng fleischfressenden Tieren, die auch tierische Eiweißstoffe anzugreifen vermögen?
- C. Gibt es Pflanzenproteasen, die auch tierische Eiweißkörper auflösen können?
- D. Gibt es tierische Proteasen, die ganz fremde, d. h. niemals berührte tierische oder pflanzliche Eiweißstoffe verdauen?

Es liegt nahe, daß bei einer Wirksamkeit von tierischen Proteasen auf pflanzliche Eiweißkörper und umgekehrt, oder von Proteasen auf ganz neue Eiweißstoffe eine Spezifität dieser Enzyme schwerlich anzunehmen wäre.

- A. Gibt es Proteasen aus fleischfressenden Tieren, welche auch Pflanzeneiweiß anzugreifen vermögen?

Bekanntlich verdauen Trypsin und Pepsin aus Hunden und Katzen pflanzliches Eiweiß. Allerdings sind solche Haustiere seit langer Zeit an gemischte Nahrung gewöhnt, doch dürften sie tierische Eiweißkörper schneller als pflanzliche, insbesondere solche angreifen, die früher niemals aufgenommen worden sind.

Ich lasse nun zunächst die Ergebnisse früherer Untersuchungen<sup>1)</sup> an Hunden und Katzen, dann eine Reihe neuer Erfahrungen an mehreren Fleischfressern folgen, wobei auch Insektenfresser, blutsaugende Tiere usw. berücksichtigt wurden.

#### 1. Magenverdauung verschiedener tierischer Nahrungsstoffe bei Hunden.

Obwohl der Hund, wie gesagt, zu einem gemischt fressenden Tier geworden ist und meine diesbezüglichen Versuche in der Messung des in einer bestimmten Zeit gelösten Nahrungsbruchteils bestanden, so besitzen sie doch für den Gegenstand dieser Untersuchungen einiges Interesse.

##### a) Einfache Nahrung.

Versuchsmethode. Seit 3 Tagen hungernde Hunde erhielten eine 50 g Trockensubstanz entsprechende Nahrungsmenge; nach 5—8

<sup>1)</sup> Fermi, Cl., La digeribilità gastrica degli alimenti studiata in rapporto all'igiene (Giorn. de R. Soc. Ital. di Ig. Anno XIX. 1897.)

Stunden ließen wir die Tiere in Kohlenoxyd sterben und wogen den Nahrungsrückstand im Magen zurück<sup>1)</sup>. Diese Gewichte sind im folgenden zusammengestellt:

Fleischsorten.			
Rindfilet	9,0 g	Gesottenes Huhn	10,5 g
Gesottenes Rindfleisch	9,5 "	Gebratenes Huhn	11,5 "
Pferdefleisch, jung, gesotten	10,0 "	Milchkalbfleisch, gesotten	12,0 "
Hammelfleisch	10,0 "	Schweinefleisch, gesotten	13,0 "
Lammfleisch	10,5 "		

Organe.			
Kalbagekröse	5,0 g	Kaldaunen, roh	14,0 g
Kalbagehirn, roh	5,5 "	Kaldaunen, gesotten	15,0 "
Rindsblutfasern	6,0 "	Rindsblut, gekocht	18,0 "
Lunge, roh	7,0 "	Schinkenschwarte	35,0 "
Pferdeleber, gesotten	14,0 "	Sehne	40,0 "
Nieren, gesotten	14,0 "		

Würste.	
Römische Schwartenwurst	13,0 g
Grieben	15,0 "

Fische und Weichtiere.			
Gemischte Fische, gebacken	12,0 g	Aal, sehr fett	15,0 g
Stockfisch	13,0 "	Pulpe	14,0 "

Eier.	
Eidotter, geronnen	5,0 g
Eiweiß, geronnen	12,0 "

Fette.			
Oel	16,0 g	Schmalz	21,0 g
Butter	18,0 "	Speck	28,0 "

Milchspeisen.			
Milch	2,0 g	Römischer Schafkäse, jung	24,0 "
Molkenkäse, frisch	13,0 "	Römischer Schafkäse, alt	27,0 "
Molkenkäse, gesalzen	15,0 "		

Mehlspeisen.			
Reis, gekocht	6,0 g	Brotkrume	9,0 g
Reis, wenig gekocht	8,0 "	Brotrinde	10,0 "
Reis, fast roh	14,0 "	Gewöhnlicher Kuchen, gut ge-	
Makkaroni, gekocht	7,5 "	backen	7,0 "
Makkaroni, stark gekocht	8,0 "	Gewöhnlicher Kuchen, mit Fett,	
Makkaroni, fast roh	11,0 "	fast roh	15,0 "
Fadennudeln	7,0 "	Polenta aus Maismehl	8,0 "
Dicke Nudeln	8,0 "	Polenta aus Kastanienmehl	12,0 "
Weizenklöße	12,0 "	Kartoffeln, gesotten	7,0 "

Kräuter und Gemüse.			
Zwiebeln, gut gekocht und ge-		Bohnen, gekocht und gewürzt	15,0 g
würzt	12,0 g	Feldbohnen, gekocht u. gewürzt	16,0 "
Erbsen, gekocht und gewürzt	13,0 "	Kichererbsen gekocht u. gewürzt	31,0 "

#### b) Gemischte Nahrung.

Tierische und pflanzliche Nahrungsmittel wurden hungernden Hunden gleichzeitig dargereicht; die Gesamtmenge enthielt, wie oben, 50 g Trockensubstanz:

Gesottenes Pferdefleisch	Rückstand	5,0 g	Gesottenes Pferdefleisch	Rückstand	2,0 g
+ Makkaroni	"	5,0 "	+ Walnüsse	"	18,0 "
Gesottenes Pferdefleisch	"	2,0 "	Gesottenes Pferdefleisch	"	8,0 "
+ gekochte Feldbohnen	"	20,0 "	+ gebratene Kastanien	"	21,0 "

1) Für Angaben über Rasse, Gewicht, Magenvolumen, Azidität des Magensaftes usw. verweisen wir auf die erwähnte Arbeit.



Seit 24 Stunden hungernde Schweine erhielten je 100 g gemischte Nahrung; im übrigen wurde der Versuch wie oben ausgeführt:

Rohes Pferdefleisch	Rückstand 20,0 g	Rohes Pferdefleisch	Rückstand 19,0 g
+ Polenta aus Maismehl	„ 14,8 „	+ rohe, trockene Feld-	
Rohes Pferdefleisch	„ 15,4 „	bohnen	„ 50,0 „
+ Weizenbrot	„ 0,4 „		

Aus beiden Versuchsreihen erhellt, daß Hunde pflanzliche Nahrungsmittel ebenso schnell oder noch schneller als tierische Nährstoffe verdauen, wie aus folgender Zusammenstellung hervorgeht:

Nahrungsstoffe (je 50 g).

Pflanzliche	Rückstand g	Tierische	Rückstand g
1. Reis	6,0	1. Rindsfilet	9,0
2. Gesottene Kartoffeln	7,0	2. Lunge	7,0
3. Kuchen	7,0	3. Gebratenes Huhn	11,5
4. Makkaroni	7,5	4. Rindfleisch	9,5
5. Nudeln	7,8	5. Pferdefleisch, jung	10,0
6. Maispolenta	8,0	6. Kalbfleisch	12,0
7. Brotkrume	9,0	7. Lammfleisch	10,0
8. Brotrinde	10,0	8. Gesottenes Huhn	10,5
9. Weizenklöße	12,0	9. Hammelfleisch	10,0
10. Kastanien	12,0	10. Schweinefleisch	13,0
11. Zwiebeln	12,0	11. Molkenkäse	13,0
12. Erbsen	13,0	12. Gesottene Leber	14,0
13. Gartenbohnen	15,0	13. Gesottene Niere	14,0
14. Feldbohnen	16,0	14. Kaldaunen	14,0
15. Kichererbsen	31,0	15. Rindsblut, gekocht	18,0
		16. Alter Schafkäse	27,0

Reis, Teigwaren, Brot, Polenta, Kastanien werden im Hundemagen schneller als Rinds-, Pferde-, Lamm-, Hammel-, Hühner-, Kalbs- und Schweinefleisch verdaut; sogar Zwiebeln und Erbsen werden leichter verdaut als Molke und Leber, Garten- und Feldbohnen leichter als Nieren und Kaldaunen.

Die gleichzeitige Verdauung tierischer und pflanzlicher Eiweißstoffe bestätigt unsere Auffassung und zeigt, daß die Auflösung pflanzlicher Eiweißkörper im Hundemagen beinahe gleich schnell wie im Schweinemagen verläuft.

## 2. Wirkung peptischer und tryptischer Enzyme verschiedener Fleischfresser auf pflanzliches Eiweiß.

Versuchsmethode: 10 ccm eines Auszuges der Magenschleimhaut in 10 Raumteilen verdünnter Salz-säure, resp. 10 ccm eines Auszuges der Bauchspeicheldrüse und Darmschleimhaut in 10 Raumteilen 1-proz. Phenols erhielten je ein  $3 \times 3$  mm großes Kleberwürfelchen und blieben 3, 5, 10 Tage bei 37° C.

	Peptische Enzyme	Tryptische Enzyme
Säugetiere:		
Hund	— +	0
Katze	—	0
Fledermaus	—	0
Vögel:		
Königsadler	— +	0
Falke	+	0
Falco tinunculus	—	0
Strix flammea	—	0

	Peptische Enzyme	Tryptische Enzyme
<b>Fische:</b>		
<i>Trachinus</i>	0 ?	0
<i>Smaris</i>	+ (nach 24 St.)	0
<i>Acanthocottus</i>	0	0
<i>Labrus</i>	+ (nach 48 St.)	0
<i>Serranus scriba</i>	+ „ 48 „	0
<i>Gadus morrhua</i>	+ „ 48 „	0
<i>Mullus barbatus</i>	0	0

Ergebnisse: 1) Magenextrakt aus verschiedenen streng fleischfressenden Säugetieren, Vögeln und Fischen löste pflanzliches Eiweiß (Kleber) ganz gut.

2) Tryptische Auszüge aus denselben Tieren waren auf Kleber unwirksam.

Wir werden aber bald sehen, daß auch Trypsin aus Pflanzenfressern, ja selbst pflanzliche Proteasen (Papain, Feigenmilchsaft) Kleber nicht angreifen, oft auch für tierische Eiweißkörper, wie geronnenes Blutserum und Eiweiß, wirkungslos sind.

**B. Gibt es Proteasen aus streng pflanzenfressenden Tieren, welche auch tierische Eiweißkörper angreifen können?**

Aus früheren und neueren Untersuchungen habe ich folgende Angaben zusammengestellt:

	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Kleber
<b>Säugetiere:</b>						
<i>Lepus cuniculus</i>	++	+	+	— +	— —	0 ?
<i>Cavia cobaya</i>	+	+	+	—	—	0 ?
<b>Vögel:</b>						
<i>Serinus hortulanus</i>	++	+	+	—	0	0 —
<i>Chloris hortensis</i>	++	+	+	—	0	0 —
<b>Fische:</b>						
<i>Box salpa</i> <sup>1)</sup>	+	+	+	—	0 ?	0 ?
<b>Weichtiere:</b>						
<i>Limax agrestis</i>	+	+ —	— —	0	0	0 —
<i>Helix campestris</i>	+	— —	— —	0	0	0 ?
„ <i>hortensis</i>	+	— —	— —	0	0	0 ?
<b>Insekten:</b>						
<i>Chrysomela varians</i>	+	—	—	0	0	0 ?
<i>Ocypus olens</i>	+++	+	+	—	—	0
<i>Coccinella septempunctata</i>	++	—	—	0	0	0
<i>Melolontha vulgaris</i>	+	—	—	—	0	0 ?
<i>Acridium aegypticum</i>	+++	—	—	—	0	0 ?
<i>Gryllus campestris</i>	++	—	—	—	0	0
<i>Hydrophilus piceus</i>	++++	+	+	—	0	0 ?
<i>Locusta viridis</i>	+	—	—	0	0	0
<i>Vanessa cardui</i>	—	0	0	0	0	0
<i>Eropinota hirta</i>	— +	—	—	0	0	0

1) Eigentlich nehmen, nach brieflicher Mitteilung von Prof. Cerruti-Neapel *Box salpa*, *Box boops* und einige *Sargus*-Arten außer vornehmlich pflanzlicher

28\*

Proteasen verschiedener pflanzenfressender Säugetiere, Vögel, Fische, Weichtiere und Insekten lösen tierische Eiweißstoffe (Gelatine, Kasein, Fibrin) schneller als pflanzliche (Kleber) auf.

C. Gibt es pflanzliche Proteasen, welche tierische Eiweißkörper auflösen?

Bekanntlich wurde die Existenz pflanzlicher Proteasen gerade an deren Einwirkung auf tierische Eiweißkörper — Gelatine, Fibrin usw. — erkannt; Papain greift sogar Fleisch, Blutserum und Eiweiß in geronnenem Zustande auf.

Aus einer älteren Arbeit<sup>1)</sup> folgt, daß alle pflanzlichen Proteasen Gelatine auflösen können. Ich gebe hier nur eine Liste der proteolytisch wirkenden Pflanzen wieder, wobei der Wirkungsgrad durch —, —, —, +, ++, +++ gedeutet wird.

I. Algen. (Ganze Pflanze.)

<i>Codium tomentosum</i>	—	<i>Dictyota dichotoma</i>	—
<i>Padina Pavonia</i>	—	<i>Ceramium</i>	—
<i>Chara</i>	—		

II. Flechten. (Ganze Pflanze.)

<i>Parmelia pulverulenta</i>	+++	<i>Stereocaulon denudatum</i>	—
„ <i>alliaris</i>	+	<i>Placodium gypsaceum</i>	+
<i>Physcia parietina</i>	+	<i>Lecanora atra</i>	— —
<i>Peltigera ciliaris</i>	+	<i>Lecidea geographica</i>	+
<i>Collema Hildebrandii</i>	+		

III. Samenpflanzen.

1. Milchsäfte, Harze.

<i>Pinus halepensis</i>	— —	<i>Maclura aurantiaca</i>	+
<i>Nelumbium speciosum</i>	+	<i>Calonyction macrantho-</i>	
<i>Tweedia neriifolia</i>	+	leucum	—
<i>Asclepias curassavica</i>	+	<i>Convolvulus silvaticus</i>	—
<i>Tanghinia venenifera</i>	+	<i>Euphorbia Lathyris</i>	+++
<i>Plumeria alba</i>	+	„ <i>Firucalli</i>	+
<i>Vasconcellea hastata</i>	+	„ <i>canariensis</i>	+
<i>Ficus carica</i>	+++	„ <i>balsamifera</i>	+
„ <i>elastica</i>	—	„ <i>coerulescens</i>	+
<i>Morus tartarica</i>	— —	„ <i>grandidens</i>	+
„ <i>alba</i>	—	<i>Poinsettia pulcherrima</i>	+
<i>Broussonetia papyrifera</i>	+++	<i>Clusia sp.</i>	+

2. Blatt- und Stengelsäfte.

<i>Agave americana</i>	+	<i>Anagallis arvensis</i>	+
<i>Phytolacca dioica</i>	+++	<i>Glycine sinensis</i>	—

3. Stengel, Zweige, Blätter.

<i>Gynerium argenteum</i>	— —	<i>Ficus repens</i>	—
<i>Dyckia breviceps</i>	+++	<i>Phytolacca dioica</i>	+
<i>Dasyllirion acrothricum</i>	—	„ <i>abyssinica</i>	+
<i>Casuarina quadrivalvis</i>	— —	<i>Cissus quinquefolius</i>	—
<i>Platanus orientalis</i>	— —	<i>Portulaca oleracea</i>	++ —

4. Wurzeln.

<i>Oenothera coccinea</i>	+	<i>Philodendron pertusum</i>	—
<i>Vanilla planifolia</i>	—	<i>Chamaerops humilis</i>	—
<i>Amorphophallus Rivieri</i>	+++	<i>Phoenix canariensis</i>	—
<i>Colocasia antiquorum</i>	+	<i>Aspidistra elatior</i>	+++

Nahrung (Algen), auch tierische Stoffe auf. Streng pflanzenfressende Fische scheinen nicht vorzukommen.

1) Fermi, Cl., e Buscaglioni, L., Su gli enzimi proteolitici e peptonizzanti dei vegetali. (Ann. R. Istit. Botan. di Roma. Vol. VII. 1898.)

<i>Convallaria japonica</i>	— —	<i>Podocarpus sinensis</i>	+
„ <i>majalis</i>	—	<i>Alnus glutinosa</i>	+
<i>Allium sativum</i>	—	<i>Ficus repens</i>	+
„ <i>porrum</i>	—	<i>Ricinus communis</i>	— —
<i>Bromelia</i> sp.	+++	<i>Magnolia grandiflora</i>	—
<i>Acanthostachys strobilacea</i>	—	<i>Dolichos lignosus</i>	—
<i>Clivia miniata</i>	—	<i>Trapa natans</i>	—
<i>Musa</i>	—	<i>Lysimachia nummularia</i>	?
<i>Dammara australis</i>	?	<i>Solandra</i> sp.	?
<i>Araucaria brasiliensis</i>	+	<i>Erica</i> sp.	—

## 5. Knollen, Zwiebeln, Wurzelknollen.

<i>Convallaria japonica</i>	—	<i>Cycas revoluta</i>	++
<i>Tamus communis</i>	+	<i>Eleagnus angustifolia</i>	—
<i>Dioscorea bulbifera</i>	+++	Verschiedene Leguminosen!	—

## 6. Blüten und Früchte.

<i>Cypripedium crassipes</i>	?	<i>Hibiscus speciosus</i> (Pollen)	+++
<i>Pontederia</i>	—	„ „ (Staubbl.)	+
<i>Agapanthus umbellatus</i>	—	„ „ (Narbe)	+
(Samenanlage)	—	<i>Opuntia</i>	+
<i>Agapanthus umbellatus</i>	—	<i>Cucurbita maxima</i> (Pollen)	+++
(Staubblätter)	—	„ „ (Staubbl.)	+
<i>Yucca gloriosa</i>	—	„ „ (Narbe)	+
<i>Hedychium maximum</i> (Pollen)	+++	<i>Cestrum Parqui</i>	—
„ „ (Narbe)	—	<i>Datura Metel</i>	+
<i>Viola tricolor</i>	— ?	<i>Salvia splendens</i> (Kelch)	+
<i>Abutilon vexillarium</i>	+	„ „ (Staubblätter)	++
		<i>Helianthus annuus</i>	++

## 7. Unreife Samen.

<i>Euphorbia</i>	+	<i>Phaseolus multiflorus</i>	+
<i>Raphanus sativus</i>	?	<i>Anagallis arvensis</i>	?
<i>Albizia Julibrissin</i>	+	<i>Martynia proboscidea</i>	—

## 8. Reife Samen.

<i>Sorghum cernuum</i>	++	<i>Linum usitatissimum</i>	++
<i>Cannabis sativa</i>	+	<i>Anagallis arvensis</i>	+

## 9. Keimende Samen.

<i>Pinus halepensis</i>	+	<i>Linum usitatissimum</i>	+
Weizen	+	<i>Hibiscus speciosus</i>	+
<i>Sorghum cernuum</i>	+	<i>Opuntia</i>	+
<i>Agave americana</i>	+	<i>Lagenaria vulgaris</i>	+++
<i>Cannabis sativa</i>	—	<i>Lathyrus</i>	+
<i>Ricinus communis</i>	—	<i>Ipomoea batatas</i>	+
<i>Euphorbia Wulfenii</i>	+	<i>Datura Metel</i>	+
<i>Pircunia dioica</i>	+++	<i>Helianthus annuus</i>	+

## IV. Parasitische Pflanzen.

<i>Orobanche hederæ</i>	+	<i>Cuscuta Trifolii</i>	+
-------------------------	---	-------------------------	---

## V. Fleischfressende Pflanzen.

## Kannen, Tentakel usw.

<i>Nepenthes superba</i>	—	<i>Drosera rotundifolia</i>	?
<i>Sarracenia purpurea</i>	— —	<i>Aldrovanda vesiculosa</i>	—
<i>Darlingtonia</i>	—	<i>Utricularia vulgaris</i>	— ?

## VI. Pilze.

<i>Fuligo septica</i>	—	<i>Polyporus fomentarius</i>	+
<i>Didenna</i> sp.	?	<i>Coprinarius</i> sp.	++
<i>Didymium</i> sp.	+++	<i>Amanita caesarea</i>	+
<i>Physarum</i> sp.	—	„ <i>ovoidea</i>	—
<i>Plasmopara viticola</i>	—	<i>Ustilago Fischeri</i>	—
<i>Boletus edulis</i>	+++	<i>Phragmidium incrassatum</i>	+
<i>Polyporus corylinus</i>	+++	<i>Auricularia</i> sp.	+++
„ <i>squamosus</i>	+++	<i>Clavaria formosa</i>	—

<i>Cantharellus cibarius</i>	—	<i>Tuber aestivum</i>	++
<i>Sphaeria concentrica</i>	—	„ <i>macrosporum</i>	+
<i>Sclerotium semen</i>	—	<i>Terfezia Leonis</i>	++
<i>Claviceps purpurea</i>	++	<i>Sphaerobolus stellatus</i>	++

Unter 425 untersuchten Arten waren 102, d. h. etwa 36 Proz., auf Gelatine wirksam. Für die verschiedenen Pflanzenklassen ergeben sich folgende Frequenzzahlen:

I. Algen	5:10 = 50 Proz.
II. Flechten	9:25 = 37 „
III. Samenpflanzen	{ Stengel, Zweige, Blätter 10:49 = 24 Proz. }
	{ Milchsaft, Harz 27:48 = 55 „ }
	{ Blüten, Früchte 21:58 = 32 „ }
	{ Unreife Samen 26:13 = 46 „ }
	{ Reife Samen 4:22 = 18 „ }
	{ Keimende Samen 16:23 = 60 „ }
	{ Zwiebeln und Knollen 6:12 = 45 „ }
	{ Wurzeln 28:42 = 66 „ }
IV. Parasitische Pflanzen	2:6 = 33 „
V. Fleischfressende Pflanzen	6:12 = 50 „
VI. Pilze	22:40 = 55 „

Moose, Lebermoose, Schachtelhalme und Farne (fruchtbare Wedel, Rhizome, Wurzeln), im ganzen 11 Arten, waren unwirksam. Die Prozentzahl wird bei den Algen wohl zu hoch ausgefallen sein, denn es wurden nur 10 Arten untersucht. Auch die Frequenzzahlen für einzelne Organe dürften nur annähernd sein. Richtigere Zahlen erhält man durch Untersuchung aller Organe einer Pflanze.

Bei verschiedenen Teilen (Stengel, Blätter, Milchsaft, Blüten, Samen, Knollen, Wurzeln) folgender 42 unter 132 untersuchten Pflanzen wurde ein gelatinolytisches Enzym nachgewiesen:

1. Stengel.			
<i>Cicer arietinum</i>	—	<i>Salvia speciosa</i>	—
<i>Juncus longus</i>	+?	<i>Senecio vulgaris</i>	+
<i>Hyoscyamus albus</i>	—?	<i>Ruta graveolens</i>	+
<i>Cotyledon</i>	—		
2. Blätter.			
<i>Broussonetia papyrifera</i>	+	<i>Solanum lycopersicum</i>	+
<i>Juncus longus</i>	—?	<i>Tamarix gallica</i>	+?
<i>Arundo donax</i>	—		
3. Milchsaft.			
<i>Euphorbia Characias</i>	—		
4. Blüten.			
<i>Crassula coccinea</i>	—?	<i>Scolopendrium officinale</i>	+?
<i>Foeniculum vulgare</i>	+	<i>Tribulus terrestris</i>	—
<i>Oenanthe pimpinelloides</i>	—		
5. Samen.			
<i>Prunus amygdalus</i>	+		
6. Knollen.			
<i>Dahlia variabilis</i>	+		
7. Wurzeln.			
<i>Mesembryanthemum geniculiflorum</i>	+	<i>Cicer arietinum</i>	+
<i>Amaranthus viridis</i>	++	<i>Calendula arvensis</i>	+
<i>Broussonetia papyrifera</i>	—	<i>Calamintha nepeta</i>	+?
<i>Buxus sempervirens</i>	+	<i>Cotyledon sp.</i>	—
<i>Brassica verrucosa</i>	+	<i>Dahlia variabilis</i>	+
<i>Convolvulus arvensis</i>	—+	<i>Evonymus europaeus</i>	+
<i>Chrysanthemum album</i>	+	<i>Geranium multiflorum</i>	+++
		<i>Hedera helix</i>	+?

<i>Jasminum azoricum</i>	++?	<i>Ruta graveolens</i>	+
<i>Juncus longus</i>	—	<i>Solanum lycopersicum</i>	+
<i>Laurus nobilis</i>	+	„ <i>melongena</i>	+
<i>Malva rotundifolia</i>	+	„ <i>nigrum</i>	+
<i>Morus alba</i>	+	<i>Spercularia arvensis</i>	+
<i>Mespilus japonica</i>	+	<i>Solidago virga aurea</i>	+
<i>Oenanthe pimpinelloides</i>	+	<i>Zea Mays</i>	+
<i>Pittosporum tobira</i>	+		

Daraus ergeben sich folgende Frequenzzahlen:

Wurzeln	32:41 = 76 Proz.
Milchsäfte	1:2 = 50 „
Samen	2:5 = 40 „
Knollen	1:4 = 25 „
Stengel	7:41 = 17 „
Blüten	5:31 = 16 „
Blätter	4:41 = 9 „

Bei einer weiteren Versuchsreihe wurden Fibrin und Kasein von folgenden Pflanzenteilen angegriffen:

#### 1. Samen.

<i>Avena sativa</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>Cannabis sativa</i>	<i>Pisum sativum</i>
<i>Corylus avellana</i>	<i>Ricinus communis</i>
<i>Triticum sativum</i>	<i>Secale cereale</i>
<i>Hordeum sativum</i>	<i>Sinapis alba</i>
<i>Lagenaria vulgaris</i>	<i>Vicia Faba</i>
<i>Linum usitatissimum</i>	„ <i>sativa</i>
<i>Lupinus hirsutus</i>	<i>Zea Mays</i>
<i>Phaseolus multiflorus</i>	

#### 2. Blätter und Zweige.

<i>Ananas sativus</i>	<i>Cucurbita Pepo</i>
<i>Asparagus officinalis</i>	<i>Hyacinthus orientalis</i>
<i>Beta vulgaris</i>	<i>Phytolacca abessinica</i>
<i>Broussonetia papyrifera</i>	„ <i>dioica</i>

#### 3. Knollen und Wurzeln.

<i>Amorphophallus Rivieri</i>	<i>Cycas revoluta</i>
<i>Aspidistra elatior</i>	<i>Dioscorea bulbifera</i>

#### 4. Milchsaft.

<i>Euphorbia altissima</i>	<i>Euphorbia pubescens</i>
„ <i>globosa</i>	

Zuletzt eine Versuchsreihe mit Gelatine, Fibrin, Kasein, Serum, Eiweiß und Kleber:

	Gelatine	Fibrin	Kasein	Serum	Eiweiß	Kleber
Blätter und Zweige.						
<i>Broussonetia papyrifera</i>	+	—	0?	0	0	0
<i>Phytolacca abyssinica</i>	++	+	—	0	0	0
<i>Phytolacca dioica</i>	++	+	—	0	0	0
Milchsaft.						
<i>Euphorbia altissima</i>	+++	+	0?	0	0	0
„ <i>globosa</i>	++	+	0?	0	0	0
„ <i>pubescens</i>	++	—	—	0	0	0
<i>Ficus Carica</i>	+++	++	++	++	0	0
<i>Carica Papaya</i>	+++	++	++	++	—	0

Diese 8 Pflanzenproteasen lösten tierische Eiweißkörper (Gelatine, Fibrin und Kasein), Feigenmilchsaft und Papain, sogar Serum und Eiweiß schneller als Kleber. In einer früheren Arbeit haben Buscaglioni

und ich gezeigt, daß Feigenmilch und Saft aus *Phytolacca abessinica* und *Portulaca oleracea* tierisches Eiweiß (Gelatine) leichter angreifen als Proteinkristalloide aus Kartoffeln und Aleuronkörnern.

Es schließen sich hier auch ältere Erfahrungen mit Mikroorganismen an:

1) Beinahe alle Gelatine verflüssigenden Mikroorganismen bilden Protease nicht nur auf Gelatine, sondern auch auf Agar, Bouillon, Pepton und ganz eiweißfreien, nur Ammon-, Mineralsalze und Glycerin führenden Nährboden.

2) Auf Kartoffeln bilden *Vibrio cholerae*, V. Finkler-Prior, *Bact. prodigiosum* und *Bact. pyocyaneum* keine Glutinasen.

Im großen und ganzen verdauen pflanzliche Proteasen tierische, überhaupt fremde oder zum erstenmal begegnete Eiweißkörper viel schneller als pflanzliches Protein.

D. Gibt es tierische Proteasen, welche ganz fremde, das heißt niemals berührte tierische oder pflanzliche Eiweißstoffe verdauen können?

a) Die zahlreichen Proteasen verschiedener fleischfressender Tiere verdauen das ganz fremde Kasein schneller als Muskelfleisch und andere Teile der Würmer, Gliederfüßer, Weichtiere, Fische, Reptilien und Vögel, welche ihre gewöhnliche Nahrung darstellen.

b) Die zahlreichen Enzyme der Blutsauger verdauen besser Gelatine und Kasein, d. h. in ihrer gewöhnlichen Nahrung kaum auftretende Eiweißkörper, als Blutserum.

Dazu ist zu bemerken, daß absolut fleisch- oder pflanzenfressende Tiere nicht vorkommen, weil

1) Fleischfresser oft pflanzliche Fragmente bei der Aufsuchung der Nahrung im Boden oder in den Gewässern oder auch durch die Ingestion ganzer pflanzenfressender Säugetiere, Vögel und Gliederfüßer aufnehmen;

2) Pflanzenfresser oft tierische Eiweißstoffe aufnehmen, sei es bei der Entwicklung durch Amniosflüssigkeit, Eier und Milch, sei es durch kontinuierliches Abschaben des Darmepithels (bei Insekten sehr weitgehend), sei es durch Mucinabsonderung oder durch Ingestion der auf Pflanzen zufällig vorkommenden Tierchen (Protozoen, Würmer, Tausendfüße, Panzertiere, Insekten, Weichtiere usw.).

Indessen dürfte diese unwillkürliche Aufnahme ganz fremder Eiweißstoffe rein zufällig und spurenweise geschehen; die Ernährung mit mütterlichen Eiweißkörpern dauert recht kurze Zeit; Mucin ist überhaupt unverdaulich. Andererseits ist der Sekretionsreiz, wenigstens bei mehrzelligen Tieren, konstant und hält lange Zeit an.

Uebrigens wird die von der Pawlowschen Schule übertriebene Bedeutung der Beziehung zwischen Sekretionsreiz und Menge, sowie Qualität der abgesonderten Enzyme durch neuere Arbeiten von Lombroso, Bompiani, Rinaldini u. a. Schülern von Luciani stark verringert. Eine solche Beziehung wird übrigens nur durch Reflexe, nicht aber durch direkte Berührung von Nährstoff und Drüsenzelle hergestellt.

Der Einwand, daß Pflanzenwurzeln im Boden tierische Eiweißstoffe berühren können, ist ebenfalls grundlos, da Wurzeln Eiweißkörper niemals absorbieren und die Proteasenbildung in den inneren Geweben erfolgt.

Wird die Verdauung ganz neuer Eiweißkörper durch tierische und pflanzliche Proteasen von unseren Versuchen deutlich nachgewiesen, so erwähne ich doch noch folgende Tatsachen:

1) Proteasen aus fleischfressenden Säugetieren, Vögeln, Fischen usw. können Arten von Amphibien, Reptilien, Fischen und Weichtieren verdauen, die das lebende Tier absolut verwirft.

2) Allerlei Tiere können Eiweißstoffe exotischer Tiere und Pflanzen verdauen, welche sie gewiß zum ersten Male aufnehmen. Denken wir nur an die Fütterungsverhältnisse in zoologischen Gärten und Menagerien.

3) Pflanzliche, sogar Algenproteasen verdauen Gelatine, Fibrin, Kasein usw., obwohl zu Anfang des Pflanzenlebens auf der Erde sehr wahrscheinlich kein Tier, gewiß aber kein Säugetier existierte.

4) Aus gleichem Grunde könnten die Proteasen der Protozoen, Schwämme, Stacheltiere, Würmer usw. keine Wirkung auf Proteinstoffe der Panzertiere, Insekten, Tausendfüßler, Weichtiere, Manteltiere, Fische, noch weniger der Vögel und Säugetiere haben, da die letzteren Typen viel später auftraten.

5) Darf man nicht denken, daß die Sekretionszellen zwecklose Enzyme fortwährend ausscheiden, und können wir auch nicht annehmen, daß sie neue Enzyme für jeden zum erstenmal berührten Eiweißkörper unvorbereitet absondern.

Wir müssen daher schließlich zu unserer Anschauung der Polyvalenz oder Nichtspezifität der Verdauungsproteasen immer wieder zurückkommen. Intensitätsschwankungen bei einzelnen Verdauungssäften lassen sich erfahrungsgemäß auf Konzentrationsunterschiede der wirksamen Enzyme zurückführen.

#### Kapitel XXV.

#### **Bedeutung der Nichtspezifität der Proteasen für die Verbreitung der Tierarten.**

Die Mehrwertigkeit der proteolytischen Enzyme hatte für die Verbreitung der Tierarten auf der Erde eine hervorragende Bedeutung. Wären die tierischen Proteasen streng spezifisch, so müßten mit neuen oder fremden Nahrungsstoffen gefütterte Tiere schnell zugrunde gehen, da eine Resorption ganzer oder nur teilweise angegriffener Eiweißstoffe nach den neueren Untersuchungen *Abderhaldens* kaum anzunehmen und die proteolytische Bedeutung der Darmflora sehr zweifelhaft ist, zumal da das vorherrschende *B. coli* keine Ektoprotease absondert.

Es wäre dann aber unmöglich, exotische Tiere in unseren Ländern zu erziehen, und würden auch die Tierwanderungen zur Aufsuchung neuer Weideplätze und neuer Nahrung, welche den großartigsten Verbreitungsfaktor darstellen, sehr bald eine Schranke gefunden haben.

#### Kapitel XXVI.

#### **Die angebliche Spezifität der Ektoproteasen in Beziehung zu den üblichen Nachweis- und Demonstrationsmethoden.**

Bei einer Spezifität der Proteasen würde sich der Nachweis einer Protease außerordentlich schwierig und zeitraubend gestalten, da wir aus der Wirksamkeit auf einen Eiweißkörper, z. B. Gelatine, keineswegs schließen dürften, daß es sich um etwas anderes als um Glutinase handelt, und die Unwirksamkeit auf eine beliebig lange Reihe von Eiweißkörpern würde das Fehlen irgendeiner proteolytischen Wirkung kaum nachweisen.



Dagegen erlaubt gerade die Polyvalenz oder Nichtspezifizität der Proteasen eine in manchen Fällen sehr rasche Orientierung über das Vorhandensein und die Wirkungsgrenze der proteolytischen Enzyme durch Einwirkung auf wenige, richtig gewählte und in geeigneter Weise vorbereitete Eiweißstoffe zu erzielen. Wir müssen natürlich ein Substrat wählen, daß in bezug auf Gewinnung, Bereitung und Bequemlichkeit der Handhabung und Empfindlichkeit nicht zuviel zu wünschen läßt.

Gelatine scheint mir noch das einfachste und sicherste Substrat für den Nachweis proteolytischer Fermente darzustellen; sie kann nach meiner Methode Trypsin in einer Verdünnung von 1:100 000, 1:500 000, sehr gut bereitetes Trypsin bis zu 1:1 000 000 anzeigen, während vom Fibrin Trypsin nur in einer Verdünnung von 1:8000, vom Blutserum (nach der Methode von Müller und Jochmann) nur von 1:1000, von Eiereiweiß (nach der Mettschen Methode) höchstens von 1:500 nachgewiesen wird.

Dabei widersteht Gelatine chemischen Verflüssigungsmitteln viel besser als andere Eiweißstoffe, wie oben gezeigt wurde, und wird von keinem der in Körpersäften vorkommenden Stoffen, außer Proteasen, verflüssigt.

Gelatine ist außerdem sehr bequem, weil man mit einem einzigen Röhrchen oder einer einzigen Petri-Schale über die Anwesenheit von Protease in 15—20 verschiedenen, und zwar auch nur spurenweise vorhandenen Materialien entscheiden kann. Vergleichen wir nun die oben besprochenen Versuche mit einzelnen Insektenköpfen!

Es haben sich übrigens alle neueren Forscher zugunsten der großen Vorzüge meiner Methode ausgesprochen.

## Kapitel XXVII.

### Uebersicht der wichtigeren Resultate.

#### I. Anschauungen über die Spezifizität der Ektoproteasen.

Während Verf., später Ascoli und Neppi, die Selbständigkeit der Glutrinase in Abrede stellten, traten Pollak und Hattori für die Existenz derselben ein. Weniger klare Anschauungen stammen von Duclaux, welcher eine Identität bald von Glutrinase und Kasease, bald von Glutrinase und Trypsin annahm, von Achalmé u. a. Emil Fischer und E. Abderhalden erklärten die Frage der Proteasenspezifizität als völlig ungelöst und äußerst schwierig.

Eine so verwickelte Frage griffen wir von möglichst vielen Seiten an. Wir untersuchten, ob im Tier- und Pflanzenreiche ausschließlich albumo- und serolytische, gleichzeitig aber Kasein, Fibrin und Gelatine nicht lösende Enzyme vorkommen, ob solche Enzyme bei der Ontogenese, der Proteasenabsonderung resp. bei der Aktivierung der Zymogene auftreten. Durch verschiedene Agentien (Licht, Wärme, Filtration, Dialyse, chemische Einwirkungen) versuchten wir die Teilproteasen zu trennen eine Ausscheidung einzelner Vermögen zu hemmen oder zu begünstigen, durch natürliche oder künstliche Antifermente, durch Komplementfällung oder Ablenkung einzelne Vermögen zu beseitigen; schließlich untersuchen wir, ob in der Natur die Bildung der einzelnen Teilproteasen von der Gegenwart der entsprechenden, zu verdauenden Eiweißkörper gerechtfertigt wird.

## II. Verbreitung der einzelnen proteolytischen Vermögen im Tierreiche.

**A. Hauptergebnisse:** Unter 410, aus 189 Tierarten gewonnenen Verdauungssäften hatte kein einziger albumo- und serolytische, in Abwesenheit der fibrino-, kaseino- und glutinolytischen Wirkung. Serolytische Fähigkeiten besaßen auch fibrino-, kaseino- und glutinolytische Eigenschaften. Alle mit kaseino- und fibrinolytischer Fähigkeit versehenen Säfte können Gelatine verflüssigen.

Auf Gelatine unwirksame Säfte waren auch auf Fibrin, Kasein, Blutserum und Eiweiß unwirksam.

Im ganzen Tierreiche kommen keine albumo- und serolytischen Enzyme vor, welche auf Kasein, Fibrin und Gelatine unwirksam sind. Ebenfalls besitzen kaseino- und fibrinolytische Enzyme auch gelatinolytische Fähigkeit.

Dagegen haben glutinolytische Enzyme sehr oft keine Wirkung auf Fibrin und Kasein, resp. kasein- und fibrinlösende Proteasen können Blutserum und Eiweiß nicht angreifen. Es kommt dabei meistens auf die aktuelle Wirksamkeit und Konzentration des Enzympräparates an.

Hinge die vielfältige Wirkung mancher Organsäfte von ebenso vielen selbständigen Enzymen ab, so dürfte man nur Eiweiß oder Serum angreifenden Verdauungssäften begegnen oder Fibrin und Kasein, aber Gelatine nicht verflüssigende Ektoproteasen finden, was in der Tat niemals beobachtet werden konnte.

**B. Nebenergebnisse:** 1) Die Schleimhaut der Speiseröhre war auf Gelatine bei allen Säugetieren unwirksam, bei Vögeln und Fischen aber wirksam.

2) Der Magensaft aller 74 Tierarten verflüssigte Gelatine bei saurer ebenso leicht wie bei alkalischer Reaktion.

3) Die Pylorusanhänge der Fische waren alle auf Gelatine, fast alle auf Fibrin und Kasein wirksam; Eiweiß konnten sie nicht angreifen.

4) Die Proteasen der untersuchten wirbellosen Tiere verflüssigten alle die Gelatine, mit Ausnahme folgender Blutsäugerarten und hungernder Entwicklungsstadien: *Culex pipiens* (Imago und Puppe), *Gastus equus*, *Ephemera vulgata*, *Vanessa cardui* (Imago und Puppe), *Ixodes ricinus*, *Holothuria tubulosa*, *Astropecten aurantiacus*; unter den Würmern verflüssigten Gelatine *Taenia erakis*, *inflexa* und *Hormogaster redii*.

5) Der Darmteil der Verdauungsröhre war bei allen Gliederfüßlern am wirksamsten, schwächer wirkte der Brustteil, am schwächsten der Kopfteil.

6) Der Kopfteil wirkte nur bei 11 unter 50 geprüften Insektenarten, bei Blutsaugern und hungernden Stadien (*Ephemera*, Puppen) war er unwirksam.

7) Bei Arten, deren Darm starke proteolytische Eigenschaften besaß, war auch der Kopfteil recht wirksam.

8) Leber- und Milzsaft lösten nur Gelatine, und zwar bei 22 Arten auf.

9) Nach abnehmender Wirksamkeit der Verdauungssäfte kann man die Tierklassen in folgender Reihe ordnen: 1) Vögel und Fische; 2) Säugetiere; 3) Gliederfüße (worunter die Spinntiere die stärksten Wirkungen entfalten); 4) Reptilien; 5) Mollusken; 6) Panzertiere; 7) Stachelhäuter; 8) Schwämme, Protozoen und parasitische Würmer.

10) Am stärksten waren die Proteasen bei fleischfressenden und gemischte Nahrung aufnehmenden, schwächer bei pflanzenfressenden

Arten, am schwächsten bei Blutsaugern und hungernden Insektenstadien.

11) Es fehlte aber auch nicht an Ausnahmen, denn die Proteasen von 16 pflanzenfressenden Arten waren auch auf tierische Proteinstoffe sehr wirksam. Wir werden später sehen, daß von einer zweckmäßigen Bildung eines bestimmten Ektoenzymes oft keine Rede sein kann.

12) Gelatine schnell verflüssigende Enzyme waren auch auf die übrigen Eiweißkörper wirksamer als Gelatine langsam auflösende Organismen.

### 3. Verbreitung der einzelnen proteolytischen Vermögen im Pflanzenreiche.

1) Unter 62 geprüften Pflanzen besaßen 41 ein gelatineverflüssigendes Enzym.

2) Nur der Milchsaft von *Ficus carica* und der *Euphorbia*-Arten konnte Fibrin schnell angreifen; bei anderen 30 Arten war die Fibrinauflösung schwach oder unsicher.

3) In keinem Falle waren fibrino- und kaseinolytische Pflanzensäfte auf Gelatine unwirksam; darum mißlang der Nachweis eines einwertigen proteolytischen Enzymes auch bei Pflanzen.

### 4. Verbreitung der einzelnen proteolytischen Vermögen bei Mikroorganismen.

1) Keine Kulturflüssigkeit, d. h. keine Ektopeptase der 73 geprüften Mikroorganismen, besaß albumo- oder serolytisches Vermögen, ohne gleichzeitig auf Kasein, Fibrin und Gelatine einzuwirken.

2) Bei Gegenwart des kaseino- und glutinolytischen Enzymes war stets auch Glutinasen vorhanden. Alle des glutinolytischen Enzymes entbehrenden Mikroben besaßen auch kein fibrino-, kaseino-, sero- und albumolytisches Vermögen.

3) Von allen untersuchten Mikroorganismen entfalteten fibrino- und kaseinolytische Wirkung nur folgende: *Sarcina aurantiaca*, *lutea* (sehr schwach), *B. prodigiosum*, *pyocyaneum*, *anthracis*, *tetani*, Rauschbrand, *oedematis maligni*, alle *Vibrionen* (außer *Vibrio saprophiles*), *Aspergillus niger*, *fumigatus*, *Botrytis cinerea*, *Sterigmatocystis alba*.

4) Albumolytische Wirkung wurde nur bei *B. pyocyaneum* und Rauschbrandbacillus (schwach) beobachtet.

5) In faulenden Flüssigkeiten, Bodenaufschwemmungen usw. fanden wir noch stärkere Proteasen als bei *B. pyocyaneum*; sie lösten auch geronnenes Eiweiß sehr schnell.

6) Es besteht eine unleugbare Beziehung zwischen den einzelnen Teilvermögen einer Protease; meistens ist das Gelatine am schnellsten verflüssigende Enzym auch auf die übrigen Eiweißkörper am wirksamsten.

7) Dieselben Resultate wurden mit Reinkulturen von Darmbakterien und der in den angewandten Fäulnisgemischen vorkommenden Mikroorganismen erhalten.

8) Fäulnisgemische sind auf Eiweiß, Serum usw. viel wirksamer als die einzelnen daraus reingezüchteten Bakterien.

### 5. Verbreitung der proteolytischen Fähigkeiten in autolysierten Pflanzensäften.

Bei Anwendung von in Autolyse begriffenen Säften aus tierischen Organen konnte die Existenz eines die höheren Eiweißstoffe (Eiweiß,

Serumeiweiß, Kasein, Fibrin) angreifenden Enzyms in Abwesenheit des gelatineverflüssigenden Vermögens nicht nachgewiesen werden.

#### 6. Ontogenetische Erscheinungsfolge der einzelnen proteolytischen Vermögen.

1) In der Bauchspeicheldrüse und der Magenschleimhaut der Menschen-, Schweine-, Hunde-, Schaf- und Ochsenembryonen erscheint zuerst das gelatinolytische, dann das fibrino- und kaseinolytische, zuletzt, und zwar nach der Geburt, das sero- und albumolytische Vermögen.

2) Eine Glutinasie tritt im Pankreas bei einer Keimlänge von 18 cm beim Menschen, 12 cm bei Schweinen, 13,5 cm bei Hunden, 31 cm bei Schafen, 15 cm bei Ochsen, 6—7 cm bei Kaninchen auf.

3) Fibrino- und kaseinolytische Eigenschaften erscheinen im Pankreas der Embryonen bei Menschen im Alter von 4—6 Monaten, bei Schweinen bei einer Länge von 35 cm, bei Hunden von 13,5 cm, bei Schafen von 31 cm, bei Ochsen von 35 cm, bei Kaninchen von 6—8 cm.

4) Ein kaseino- und fibrinolytisches Enzym trat in der Magenschleimhaut bei menschlichen Embryonen erst im 5.—6. Monate, bei Schweinen erst bei einer Länge von 17—20 cm, bei Schafen von 19 cm, bei Ochsen von 17 cm, bei Kaninchen von 6—7 cm, bei Ratten von 4—5 cm auf.

Sero- und albumolytische Eigenschaften treten beinahe immer, bei Hunden und Katzen sicherlich immer erst nach der Geburt auf.

#### 7. Ausscheidungsfolge der verschiedenen proteolytischen Vermögen bei Mikroben.

In keinem Falle erschien die albumo- und serolytische vor der kaseino-, fibrino- und glutinolytischen Fähigkeit. Waren das albumo- und serolytische Enzym vorhanden, so traten auch die übrigen daneben auf.

#### 8. Aktivierungsfolge der einzelnen proteolytischen Enzyme.

Bei der Aktivierung des Protrypsins erscheint immer zunächst das glutinolytische, darauf das fibrino- und kaseinolytische, zuletzt das sero- und albumolytische Vermögen.

#### 9. Verhalten der einzelnen proteolytischen Tätigkeiten gegen Licht und Wärme.

1) Einstündige Erwärmung auf 50—60° C und 200 Stunden lange Einwirkung des direkten Sonnenlichtes zerstörten in gleichem Umfange das gelatino- wie das fibrinolytische Vermögen des Trypsins und Pepsins.

2) Eine 1 Prom. Pepsinlösung verlor nach 60 und 75 Minuten langer Erwärmung auf 60° C oder 30 Minuten langer Erwärmung auf 65° C alle proteolytischen Eigenschaften mit Ausnahme des fibrinolytischen Vermögens.

3) Die Erwärmung von Pepsin auf 65° C während 1—2—3 Stunden beraubte das Enzym seines fibrino- und kaseinolytischen Vermögens nicht, wohl aber ging die albumo- und serolytische Wirkung verloren.

4) Einstündige Erwärmung auf 50 und 60° C oder 200 Stunden lange Einwirkung des direkten Sonnenlichtes ließen das glutino- und fibrinolytische Vermögen der 17 Bakterienproteasen gleichzeitig verschwinden; war das fibrinolytische Vermögen erhalten, so behielt das Präparat auch das glutinolytische Vermögen bei.

###### 10. Verhalten der einzelnen proteolytischen Enzyme bei der Porzellanfiltration.

1) In keinem Falle beraubte die Porzellanfiltration die angewandten Proteasen des fibrino-, kaseino- und glutinolytischen unter Beibehaltung des sero- und albumolytischen Vermögens.

2) Nach der 5. Filtration war das glutinolytische Vermögen des Pepsins auf  $\frac{1}{4}$  reduziert, das fibrinolytische Vermögen beinahe ganz verloren, während das kaseinolytische Vermögen nach der 3. Filtration gänzlich verschwunden war.

3) Das albumolytische Vermögen des Trypsins war durch die 1., das sero- durch die 2., das kaseino- durch die 3., das fibrinolytische durch die 4. Filtration aufgehoben.

4) Die Mikrobenproteasen hatten das albumo- und serolytische Vermögen bei der 1., das fibrinolytische bei der 3., das kaseinolytische bei der 4., und eine Hälfte des glutinolytischen Vermögens bei der 5. Filtration eingebüßt.

###### 11. Verhalten der einzelnen proteolytischen Fähigkeiten bei der Dialyse.

1) Wird bei der Dialyse das kaseino-, fibrino- und glutinolytische Vermögen zurückgehalten, so dialysiert auch das sero- und albumolytische Enzym nicht. War das fibrino- und kaseinolytische Enzym herausdialysiert, so war auch das glutinolytische Enzym dialysiert.

2) Nach 24-stündiger, 3- und 5 tägiger Dialyse waren im Dialysat  $\frac{1}{2}$  des glutinolytischen, Spuren des fibrino- und kaseino-, aber keine Spur des sero- und albumolytischen Vermögens des Trypsins vorhanden.

3) Das Pepsindialysat besaß eine Spur von glutinolytischem und ein erhebliches fibrino-, kaseino-, sero- und albumolytisches Vermögen.

4) Bei Gegenwart von Wein- und Milchsäure hatte das Pepsindialysat die genannten Eigenschaften, während bei Salzsäuregegenwart keine Wirkung zu beobachten war. Wein- und Milchsäure dürften somit die Pepsindialyse begünstigt haben.

###### 12. Einfluß verschiedener Stoffe auf die einzelnen proteolytischen Vermögen.

1) Keiner der geprüften Stoffe nahm dem Trypsin die gelatineverflüssigende, unter Beibehaltung der fibrinolytischen, Fähigkeit.

2) Pepsin war bei Gegenwart von Phosphor-, Milch-, Wein- und Essigsäure auf Gelatine nicht, wohl aber auf Fibrin wirksam; bei Gegenwart von Salz-, Propion-, Butter- und Valeriansäure war Pepsin auf Fibrin, nicht aber auf Gelatine wirksam. Dadurch wird nur gezeigt, daß diese Säuren die Gelatineverflüssigung hindern; denn Pepsin löste noch schnell Gelatine nach Neutralisation derselben Säuren und Zusatz der übrigen Säuren.

3) Trypsin und Papain verflüssigten noch Gelatine, aber kein Fibrin nach Einwirkung von Salz-, Salpeter-, Milch-, Aepfel-, Butter-, Ameisen- und Zitronensäure. Nur Schwefelwasserstoff verhinderte die Fibrinverdauung durch Trypsin nicht.

4) Bei Gegenwart von keinem der 8 geprüften Salze entfaltete Trypsin albumo- und serolytische Wirkung, ohne gleichzeitig auf Fibrin und Kasein einzuwirken. War auch nur ein einziges unter diesen Vermögen beibehalten, so fehlte auch das gelatineverflüssigende nicht. Die geprüften

Salze lassen sich nach folgender Reihe abnehmender Begünstigung der Trypsinwirkung anordnen:

- 1) Milchsäures Strontium.
- 2) Essigsäures Calcium.
- 3) Milchsäures Calcium.
- 4) Oxalsäures Calcium.
- 5) Oxalsäures Strontium.
- 6) Salpetersäures Calcium.
- 7) Salpetersäures Strontium.
- 8) Essigsäures Strontium.

Die beiden letzteren Salze hatten eine hemmende, die übrigen einen ausgeprägt begünstigenden Einfluß.

5) Keins unter den geprüften Chemikalien zerstörte das fibrino- oder kaseinolytische, unter Schonung des albumo- und serolytischen Vermögen des Pepsins. Nur Gelatine bildete eine Ausnahme, welche indessen bedeutungslos ist, weil auch bei der Kontrolle Gelatine ein negatives Resultat ergab.

6) Die größten Unterschiede wurden bei Einwirkung von alkalischen Lösungen (20—50 Proz. Soda, 5—20 Proz. Ammoniak, 10 Proz. Bleizucker) beobachtet.

7) Die 4 angewandten Säuren beeinflussen in gleichem Maße das eiweiß-, serum-, fibrin- und kaseinlösende Vermögen von Pepsin. Gelatine bildete wiederum eine Ausnahme, indem Salzsäure am wenigsten, Oxalsäure am meisten günstig war.

8) Das proteolytische Enzym von *Bact. prodigiosum*, *pyocyaneum*, *Bac. subtilis*, *Vibrio Finkler-Prior*, *V. Milleri* hatte bei Gegenwart aller geprüften Säuren, mit Ausnahme der Schwefelsäure, seine gelatinolytische Wirkung beibehalten.

Keins der 17 untersuchten Mikrobenenzyme hatte nach Einwirkung von Salz-, Salpeter-, Milch-, Aepfel-, Butter-, Ameisen-, Zitronen-, Essigsäure und Schwefelwasserstoff sein glutinolytisches, unter Beibehaltung des fibrinolytischen Vermögens, eingebüßt; die Zerstörung des fibrinolytischen brachte auch den Verlust des glutinolytischen Vermögens mit sich.

Salz-, Essig-, Milch-, Butter-, Ameisen- und Aepfelsäure waren weniger schädlich, Schwefel- und Salpetersäure am schädlichsten. Bei Gegenwart von Essigsäure wurde Gelatine von allen Kulturflüssigkeiten, bei Gegenwart von Schwefelsäure aber von keiner Kulturflüssigkeit angegriffen.

Bei Anwendung fester Gelatine war die Schädigung der Bakterienproteasen durch Säuren stärker als in flüssiger Gelatine, da diese das Enzym schützt und die Säure selbst neutralisiert.

### 13. Ueber die verflüssigende Wirkung verschiedener Chemikalien auf Fibrin, Gelatine, Kasein, Serum und Eiereiweiß in festem, bzw. geronnenem Zustande.

Die rein chemische Verflüssigung war bei Gelatine am häufigsten zu beobachten, wie aus folgender Zusammenstellung hervorgeht:

Gelatine wurde von 9 Stoffen verflüssigt				
Fibrin	"	"	4	"
Kasein	"	"	6	"
Serum	"	"	2	"
Eiweiß	"	"	2	"

Gelatine war daher auch von enzymfreien Chemikalien leichter angreifbar, Fibrin und Kasein wurden häufiger als Serum und Eiweiß verflüssigt, welche letztere denselben Verflüssigungsgrad zeigten.

1,5 Proz. Aetzkali war auf Fibrin und Kasein wirksamer als auf Gelatine.

Kasein widerstand einer 75-proz. Schwefelsäure besser als die übrigen Eiweißkörper, wurde aber von 25–50-proz. Milchsäure schneller als von Schwefelsäure angegriffen.

Schwefelsäure löste Eiweiß leichter als Serum auf.

Unter den 20 geprüften Stoffen waren nur Ameisen-, Oxalsäure, Strontiumlaktat und -acetat auf die Eiweißkörper unwirksam.

#### 14. Ueber die hemmende Wirkung verschiedener Stoffe auf Bildung und Ausscheidung der Bakterienproteasen.

Bei Gegenwart von keiner Fremdschubstanz erzeugten proteolytisch wirkende Mikroorganismen albumo- und serolytische Wirkungen, ohne gleichzeitig fibrino- und kaseinolytische Enzyme auszuschcheiden. Bei den untersuchten Stoffen nimmt die hemmende Wirkung auf Proteasenausscheidung, zum Teil auch auf Bakterienentwicklung, nach folgender Reihe ab:

Chinin > Antipyrin > Strychnin > Morphin > Trional > Sulfonal.

In keinem Falle bildeten proteolytisch wirkende Bakterien bei Gegenwart verschiedener Salze sero- und albumo-, ohne fibrino- und kaseinolytische Enzyme gleichzeitig auszuschcheiden. Nach der günstigen Wirkung auf Bakterienproteasen lassen sich die angewandten Salze in folgender Reihe ordnen:

Strontiumoxalat  
Calciumacetat  
Calciumlaktat  
Calciumoxalat  
Calciumnitrat  
Strontiumlaktat  
Strontiumacetat  
Strontiumnitrat

Die ersten 4 Salze führten die bakterielle Proteolyse bis zur vollständigen Eiweißauflösung.

In keinem Falle bildeten proteolytisch wirkende Mikroorganismen bei Glukosezusatz fibrino- und kaseinolytische Enzyme, ohne gleichzeitige Ausscheidung des glutinolytischen Enzymes.

Die hemmende Zuckerwirkung auf Bakterienentwicklung und Proteasenbildung war in erster Linie auf die entstehende Milchsäure zurückzuführen, denn die fortwährende Neutralisation der gebildeten Säure gestattete eine reiche Entwicklung und Proteasenausscheidung.

Auf fester Zuckergelatine waren dagegen die Entwicklung aller Mikroorganismen und die Glutinasbildung ebenso reich wie bei den zuckerfreien Kontrollkulturen, obwohl die Ansäuerung ebenfalls sehr deutlich war.

Das submerse resp. oberflächliche Leben, die im zweiten Falle geringere Säureproduktion und die Gegenwart eines die Säure teilweise neutralisierenden Eiweißkörpers (Gelatine) beeinflussen die Proteasenausscheidung in recht erheblichem Maße.

#### 15. Verhalten der proteolytischen Enzyme gegenüber Fällungsmitteln.

Fraktionierte Behandlung mit der gleichen Menge Alkohol während verschieden langer Zeit oder mit steigenden Alkoholmengen während einer gleichen Zeit gestattet keine Trennung der albumo- und serolytischen von der fibrino-, kaseino- und glutinolytischen Wirkung. Die

Schonung der fibrino- und glutinolytischen auch bei Verlust der sero- und albumolytischen Wirksamkeit erklärt sich aus einer Verdünnung oder Attenuation des Enzyms.

16. Hängt die Wirksamkeit einer Ektoprotease auf einen bestimmten Eiweißkörper von der Natur oder der Konzentration des Enzympräparates ab? Kann man einer Proteasenlösung die Wirksamkeit auf unangreifbare Eiweißstoffe durch Eindickung erteilen?

Wir versuchten, ob einiger Partialvermögen durch physikalische oder chemische Agentien beraubte oder sie natürlich entbehrende Proteasen mittels Konzentrierung durch Fällung oder Eindampfung im Vakuum bei niedriger Temperatur oder besondere Aktivationsmittel (Kinasen, einige Salze usw.) die verlorenen oder fehlenden Eigenschaften gewinnen können.

Pepsinlösungen, welche durch Erwärmung ganz unwirksam, oder durch Ammoniakbehandlung das albumo- und glutinolytische Vermögen eingebüßt hatten, zeigten wieder alle einzelnen Vermögen nach der Eindickung auf 5—10 Proz. mittels Alkoholfällung.

1-proz. Trypsin, welches das sero- und albumolytische Vermögen durch Erwärmung und Essigsäurebehandlung verloren hatte, war nach der Eindickung wiederum auf Fibrin, zum Teil auch auf Eiweiß wirksam, auf Gelatine sogar noch wirksamer.

Durch Eindampfung im Vakuum erhielten partiell attenuierte Pepsin- und Trypsinlösungen die verlorenen Eigenschaften zurück; die Kulturflüssigkeiten verschiedener Bakterien hatten nach der Eindickung im Vakuum ein stärker glutinolytisches Vermögen als vorher; bei *Bact. pyocyaneum* und *Vibrio cholerae* nahm das serolytische auch zu und erschien eine Spur von albumolytischem Vermögen; bei *Bact. prodigiosum* und *Bact. anthracis* stieg nur das fibrinolytische Vermögen.

17. Verhalten der proteolytischen Partialvermögen gegenüber natürlichen Antifermenten.

Es gelang nicht, durch Zusatz natürlicher Antienzyme, wie Normalserum und Eiweiß, Trypsin und Pepsin des kaseino-, fibrino- und glutinolytischen Vermögens unter Schonung des sero- und albumolytischen Vermögens zu berauben. Blieb das kaseino- und fibrinolytische Vermögen erhalten, so ging auch das glutinolytische nicht zugrunde.

In Bestätigung früherer Erfahrungen zeigte Eiweiß eine stärker antitryptische Wirkung als Normalblutserum.

18. Ueber den Nachweis der Partialproteasen mittels des angeblichen Pollakschen Antikörpers.

Pepton, Serumwürfelchen und Fließpapier hatten eine höhere fixierende und antitryptische Wirkung als gekochtes Trypsin; von einem antitryptischen Vermögen dieses letzteren kann daher keine Rede sein.

Rohe, gelöste Eiweißkörper hatten eine stärkere antitryptische Wirkung als koagulierte.

Die einzelnen Eiweißkörper hatten allein dieselbe antitryptische Wirkung wie bei Gegenwart von gekochtem Trypsin.

Rohe Eiweißlösungen wirkten stärker antitryptisch als in gekochtem Zustande; vielleicht fixieren gelöste Eiweißstoffe viel mehr Enzymmoleküle als geronnene.



Da Kasein das gelatinolytische Enzym sehr stark absorbierte, so verliert die Annahme den Boden, Glutinasen und Kasease seine selbstständige Enzyme.

Gekochtes Pepsin hatte eine stärkere antialbumolytische Wirkung als gekochtes Trypsin.

Eiweiß, Serum und Gelatine hatten auch eine antifibrinolytische Wirkung auf Trypsin. Diese Wirkung war bei rohen, gelösten Eiweißkörpern stärker als bei geronnenen. Gelatine hatte eine geringere antifibrinolytische Wirkung als Eiweiß.

Durch 10 Minuten lange Erwärmung auf 80° hatte denaturierter Pankreassaft auf denselben rohen Saft keinen höheren antiglutinolytischen Einfluß als Nieren- und Milzsaft; er wurde sogar vom Nierensaft übertroffen.

Das antiglutinolytische Vermögen des inaktivierten Pankreassaftes war keineswegs höher als das antisero-lytische Vermögen. Diese Feststellungen stimmen mit den Beobachtungen von Pollak nicht überein; im einzelnen wird gezeigt, daß eine stärkere Abnahme der glutinolytischen Wirkung im Vergleich zur serolytischen mit der Annahme zweier verschiedener Eigenschaften eines einzigen Enzyms leicht zu erklären ist.

#### 19. Trennung der einzelnen Teilvermögen einer Protease durch Fixierung an entsprechende Eiweißstoffe.

Flüssige Gelatine fixierte weniger Glutinasen als Serum und Lösung von getrocknetem Eiweiß; feste Gelatine absorbierte keinen größeren Bruchteil von Glutinasen als Kasein und Eiweiß.

Flüssige und feste Gelatine fixierten weniger oder ebensoviel Glutinasen als Serum, Pepsin und Pepton. Eiweiß fixierte ebenfalls weniger Albumasen als Pepton, Pepsin und inaktiviertes Trypsin.

Wäre Trypsin eine Mischung von Glutinasen, Fibrinasen, Albumasen usw., so müßte Glutinasen von Gelatine stärker als von Serum fixiert werden; in der Tat war aber die Glutinasenabsorption beim Serum stärker als bei Gelatine.

#### 20. Trennung der einzelnen Vermögen einer Protease durch Impfung.

Nach subkutaner, intravenöser oder intraperitonealer Impfung verschwand in keinem Falle das glutinolytische Vermögen unter Beibehaltung des fibrino- und kaseinolytischen.

Im Harn fanden sich beide Enzyme, in der Peritonealflüssigkeit nur Pepsin wieder.

Von beiden Enzymen blieben nur das fibrino- und kaseinolytische, vom Trypsin auch das glutinolytische Vermögen erhalten; die sero- und albumolytische Fähigkeit war bereits verschwunden.

In keinem Falle bewahrten Trypsin und Pepsin das fibrinolytische und kaseinolytische Vermögen unter Verlust des glutinolytischen bei der Impfung in verschiedene Organe eines frisch geschlachteten Hundes.

Trypsin blieb nach Einführung in das Gehirn, die Lungen, Milz, Nieren und Muskeln erhalten; es verschwand in Berührung mit dem Herzen, Leber, den Nebennieren und Speicheldrüsen.

Vom Pepsin blieb nur das fibrinolytische Vermögen in der Milz und den Nieren erhalten.

In keinem Falle verloren Pepsin und Trypsin das glutinolytische Vermögen unter Erhaltung des fibrinolytischen und kaseinolytischen nach

Impfung in heterotherme Tiere (Frösche); allerdings ging das sero- und albumolytische Vermögen verloren.

**21. Trennung der angeblichen Partialproteasen mittels spezifischer Sera.**

Serum aus mit attenuiertem, nur glutino-, fibrino- und kaseinolytisch wirkendem Trypsin geimpften Hunden hatte eine schwächere antiglutino-, antifibrino- und antikaseinolytische Wirkung als antisero- und antialbumolytische, d. h. gerade das Gegenteil, als es sich aus einer spezifischen Wirkung hätte ergeben dürfen.

**22. Beziehungen zwischen Komplementfällung, -Ablenkung und spezifischer Proteasenwirkung.**

Wäre Trypsin ein Gemisch mehrerer Proteasen, so müßten die von der hypothetischen Glutrinase (bei 50° erwärmtem Trypsin) hervorgerufenen Präzipitine nur mit Glutrinase Fällung geben, während ein Niederschlag auch mit unerwärmtem Trypsin, d. h. mit der hypothetischen Fibrinase, Kasease usw. erhalten wurde.

Aus denselben Gründen sollte das Serum von Hunden, welche nur die hypothetische Glutrinase erhalten hatten, das Komplement in Berührung mit anderen Teilproteasen, d. h. mit unerwärmtem Trypsin, nicht ablenken, während eine Ablenkung auch mit diesem erhalten wurde.

**23. Ist ein bestimmtes Proteasenquantum fähig, die größten Mengen verschiedener Eiweißkörper gleichzeitig zu verdauen, die der maximalen Wirksamkeit der einzelnen Partialproteasen entspricht?**

Bei einer Spezifität der Proteasen dürften gebrauchte Enzymlösungen, obwohl sie die ganze, zuerst verabreichte Eiweißmenge nicht verdaut hatten, noch instande sein, die anderen zugesetzten Eiweißkörper zu lösen. Das war aber keineswegs der Fall, denn es vermochten z. B. 10 ccm eines 5-proz. Trypsins a) nach Verdauung von 1—5 g Gelatine weder Fibrin noch Kasein. Serum und Eiweiß aufzulösen; b) nach der Verdauung von 1—5 g Fibrin weder Kasein noch Serum und Eiweiß aufzulösen; c) nach Auflösung von 1—5 g Kasein weder Serum noch Eiweiß zu verdauen; d) nach Einwirkung auf 1 g Eiweiß weder Kasein noch Serum zu verdauen usw.

**24. Hängt die Bildung einzelner proteolytischer Vermögen von der Gegenwart der entsprechenden Eiweißkörper ab?**

Es liegt nahe, daß bei einer Wirksamkeit von Tierproteasen auf pflanzliche Eiweißkörper und umgekehrt, oder von Proteasen auf ganz neue, d. h. im voraus niemals berührte, Eiweißstoffe eine Spezifität dieser Enzyme kaum anzunehmen ist.

Bezüglich der Magenverdauung konnten wir feststellen, daß Hunde verschiedene pflanzliche Nahrungsmittel ebenso schnell, oder noch schneller als tierische Nährstoffe verdauen, wie aus folgender Zusammenstellung hervorgeht: Reis, Teigwaren, Brot, Maispolenta, Eßkastanien wurden im Hundemagen schneller als Rind-, Pferde-, Lamm-, Hammel-, Hühner-, Kalbs- und Schweinefleisch verdaut, sogar Zwiebeln und Erbsen wurden leichter verdaut als Molke und Leber, Garten- und Feldbohnen leichter als Nieren und Kaldaunen.

Magenextrakt aus verschiedenen, streng fleischfressenden Säugetieren, Vögeln und Fischen löste pflanzliches Eiweiß (Kleber) ganz gut.

Proteasen verschiedener pflanzenfressender Säugetiere, Vögel, Fische, Muscheln und Gliedertiere lösen tierische Eiweißstoffe (Gelatine, Fibrin, Kasein) schneller als pflanzliche (Kleber) auf.

Unter 425 untersuchten Pflanzenarten waren 102, d. h. etwa 36 Proz., auf Gelatine wirksam.

Moose, Lebermoose, Schachtelhalme und Farne, im ganzen 11 Arten, waren auf Gelatine unwirksam.

Bei verschiedenen Teilen von 53 darauf untersuchten Pflanzenarten zeigte das glutinolytische Enzym folgende Frequenz:

Stengel	15,0 Proz.
Blätter	9,8 „
Milchsaft	1,8 „
Blüten	7,8 „
Samen	3,9 „
Knollen	1,8 „
Wurzeln	65,0 „

Acht pflanzliche Proteasen lösten tierische Eiweißkörper (Gelatine, Fibrin und Kasein), Feigenmilchsaft und Papain sogar Serum und Eiweiß schneller als Kleber.

Beinahe alle gelatineverflüssigenden Mikroorganismen bilden Protease nicht nur auf Gelatine, sondern auch auf Agar, Bouillon, Pepton und ganz eiweißfreien Nährböden.

Die zahlreichen Proteasen verschiedener fleischfressender Tiere verdauen das ganz fremde Kasein schneller als Muskelfleisch und andere Teile von Würmern, Gliederfüßlern, Weichtieren, Fischen, Reptilien und Vögeln, welche ihre gewöhnliche Nahrung darstellen.

Die zahlreichen Enzyme der Blutsauger verdauen besser Gelatine und Kasein, d. h. in ihrer gewöhnlichen Nahrung kaum auftretende Eiweißkörper, als Blutserum.

Proteasen aus fleischfressenden Säugetieren, Vögeln, Fischen usw. können Arten von Amphibien, Reptilien, Fischen und Weichtieren verdauen, die das lebende Tier verwirft. Allerlei Tiere können Eiweißstoffe exotischer Tiere und Pflanzen verdauen, welche sie gewiß zum ersten Male aufnahmen. Denken wir nur an die Fütterungsverhältnisse in zoologischen Gärten und Menagerien.

Pflanzliche, sogar Algenproteasen, verdauen Gelatine, Fibrin, Kasein usw., obwohl zu Anfang des Pflanzenlebens auf der Erde sehr wahrscheinlich kein Tier, gewiß kein Säugetier, existierte.

Aus gleichem Grunde konnten die Proteasen der Protozoen, Schwämme, Stacheltiere, Würmer usw. keine Wirkung auf Proteinstoffe der Panzertiere, Insekten, Tausendfüße, Weichtiere, Manteltiere, Fische, noch weniger der Vögel und Säugetiere haben, da die letzteren Typen viel später auftraten.

Nehmen wir an, die Sekretionszellen scheiden zwecklose Enzyme fortwährend aus, so können wir doch nicht annehmen, daß sie neue Enzyme für jeden zum erstenmal berührten Eiweißkörper unvorbereitet absondern.

Wir müssen daher schließlich zu unserer Anschauung der Polyvalenz oder Nichtspezifizität der Verdauungsproteasen immer zurückkommen. Intensitätsschwankungen bei einzelnen Verdauungssäften lassen sich erfahrungsgemäß auf Konzentrationsunterschiede der wirksamen Enzyme zurückführen.

## 25. Bedeutung der Nichtspezifität der Proteasen für die Verbreitung der Tierarten.

Wären die tierischen Proteasen streng spezifisch, so müßten mit neuen oder fremden Nahrungsstoffen gefütterte Tiere schnell zugrunde gehen, da eine Resorption ganzer oder nur teilweise angegriffener Eiweißstoffe nach den neueren Untersuchungen Abderhaldens kaum anzunehmen und die proteolytische Bedeutung der Darmflora sehr zweifelhaft ist.

Es wäre daher unmöglich, exotische Tiere in unseren Ländern zu erziehen und es würden auch die Tierwanderungen sehr bald eine Schranke gefunden haben.

## 26. Die Spezifität der Proteasen in Beziehung zu den üblichen Nachweismethoden.

Gerade die Polyvalenz oder Nichtspezifität der Ektoproteasen erlaubt, in manchen Fällen eine sehr rasche Orientierung über das Vorhandensein und die Wirkungsweise der proteolytischen Enzyme durch wenige richtig gewählte und in geeigneter Weise vorbereitete Eiweißstoffe zu erzielen. Wir müssen natürlich ein Substrat wählen, das in bezug auf Gewinnung, Bereitung, Bequemlichkeit der Handhabung und Empfindlichkeit nicht viel zu wünschen übrig läßt.

Gelatine ist noch das empfindlichste, sicherste und einfachste Substrat für den Nachweis proteolytischer Wirkungen. Zudem widersteht Gelatine chemischen Verflüssigungsmitteln viel mehr als andere Eiweißstoffe, wie oben gezeigt wurde, und wird von keinem der in Körpersäften vorkommenden Stoffe, außer von Proteasen, verflüssigt. Gelatine ist auch sehr bequem, weil man mit einem einzigen Röhrchen oder einer einzigen Petri-Schale über die Anwesenheit von Proteasen in 15–20 verschiedenen, und zwar auch nur spurenweise vorhandenen Materialien entscheiden kann. Es haben sich übrigens zugunsten der großen Vorzüge meiner Methode alle neueren Forscher ausgesprochen.

## Kapitel XXVIII.

### Allgemeine Schlußfolgerungen.

Aus der langen Reihe der angeführten Beobachtungen und Versuchsergebnisse ersehen wir, daß, im Gegensatz zu einer Spezifität oder Einwertigkeit der Proteasen, ein nur sero- und albumolytisch, aber nicht kaseino-, fibrino- und glutinolytisches oder ein nur kaseino- und fibrino-, aber nicht glutinolytisch wirkendes Enzym weder bei einer großen Anzahl von Tierarten aus allen Klassen, von Pflanzen, von Mikroorganismen, noch bei autolysierten Organsäften, noch während der ontogenetischen Entwicklung (Embryobildung bei Tieren, Samenkeimung bei Pflanzen), noch auch bei der Aktivierung von Zymogenen vorkommt.

Folgende Kunstgriffe reichten nicht dazu aus, die hypothetischen Teilproteasen zu trennen resp. einzelne, unter Schonung der übrigen, zu zerstören, nämlich Einwirkung von Wärme, direktem Sonnenlicht, Chemikalien; fraktionierte Porzellanfiltration, wiederholte Dialyse; fraktionierte Fällung; teilweise Attenuation und Wiederherstellung der verlorenen Eigenschaften durch Konzentration der Enzymlösung im Vakuum; Be-

einflussung der Ausscheidung von glutino-, fibrino- und kaseino- resp. sero- und albumolytischen Enzymen mittels verschiedener Stoffe; Einwirkung natürlicher Antifermente; Herstellung der ganz phantastischen Pollakschen Antikörper, Impfung der Proteaselösung in homoiotherme resp. heterotherme Tiere und Aufsuchung der einzelnen Vermögen in den Sekretionen, Exkrementen, Bauchhöhlen und Organgeweben; Absorption durch entsprechende Eiweißstoffe; Bindung durch spezifische Sera; Komplementfällung und -Ablenkung.

Eine bestimmte Proteasenmenge war nicht imstande, die Maximalmenge aller angreifbaren Eiweißstoffe gleichzeitig zu verdauen. Die Gegenwart bestimmter Proteasen ist unter natürlichen Verhältnissen durch die Zufuhr der entsprechenden Proteinstoffe kaum gerechtfertigt. Eine Spezifität der Verdauungsproteasen würde übrigens die Ernährung, Verbreitung und Wanderung der Tiere erheblich erschweren.

Bei einer Spezifität der Proteasen müßten wir schließlich die bis zur Absurdität steigende Existenz ebenso vieler peptischer und tryptischer Enzyme annehmen, wie es Proteinstoffe gibt. Andererseits scheint es kaum wahrscheinlich, daß ein eiweißlösendes Enzym so nahe verwandte Proteinstoffe oder Proteinmischungen, wie Kasein, Fibrin, Gelatine usw. nicht angreifen kann.

*Nachdruck verboten.*

## Bakteriologische Untersuchungen auf einer Fahrt nach Island, Spitzbergen und Norwegen im Juli 1913.

Von Stabsarzt Dr. **Erich Hesse**,  
kommand. zum Kaiserl. Gesundheitsamt in Berlin.

Mit 2 Textfiguren.

Wie die fließenden und stehenden Gewässer des Festlandes von einer zum Teil sehr reichhaltigen Bakterienflora bevölkert werden, so fehlen diese kleinsten Lebewesen auch im Meerwasser nicht. Allerdings ist ihre Zahl, namentlich auf hoher See, meist sehr viel geringer als in den Binnengewässern, deren Verunreinigung mit den verschiedensten abbaufähigen Produkten den Bakterien reichliche Nährstoffe bietet.

Durch eine Reihe von Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß sich die Randgebiete der Meere infolge der Vermischung mit dem keim- und nährstoffreichen Wasser der Flüsse und Ströme durch einen wesentlich höheren Gehalt an Mikroorganismen auszeichnen vor dem Wasser der hohen See. Wenn diese keimreichere Zone der Landnähe auf 3—5 km angenommen wird, so unterliegt sie natürlich, je nach der Art und Beschaffenheit der Küsten, örtlich großen Schwankungen, und auch zu verschiedenen Zeiten werden unter dem wechselnden Einfluß des Windes und anderer klimatischer Bedingungen nicht immer an derselben Stelle die gleichen Verhältnisse zu beobachten sein.

Die Ursache für den Umstand, daß in größerer Entfernung vom Land der Bakteriengehalt des Meerwassers ziemlich schnell abnimmt, ist

nun nicht allein darin zu suchen, daß außerhalb des Brackwasserbereichs die Menge der im Wasser vorhandenen Nährstoffe bedeutend geringer ist, sondern vor allem in der Tatsache, daß die ungeheuere Menge der aus den Flüssen kommenden Keime in dem stark salzhaltigen Meerwasser für ihr Gedeihen keine geeigneten Bedingungen mehr vorfindet und daß an ihre Stelle die weniger zahlreichen, eigentlichen Meerwasserbakterien, die Halibakterien treten, die gerade diese höhere Salzkonzentration für ihre Entwicklung beanspruchen. Die Bakterien, die wir im Wasser der Hochsee antreffen, gehören daher einer Flora an, die von der unserer Süßwässer grundsätzlich zu trennen ist, wenn auch morphologisch und allgemein-biologisch engste verwandtschaftliche Beziehungen oftmals vorhanden sein mögen.

Aber auch auf hoher See verhalten sich die verschiedenen Meere hinsichtlich der Dichte ihrer Bevölkerung mit Bakterien (und anderen organischen Lebewesen) durchaus verschieden, je nachdem Temperatur und Gehalt an Nährmaterial mehr oder minder günstige Bedingungen für die Erhaltung und Fortpflanzung der Organismen schaffen. Ja sogar innerhalb räumlich nicht allzuweit auseinanderliegender Teile ein und desselben Meeres können durch Strömungen und andere Momente ganz erhebliche Unterschiede in der Zahl der im Wasser vorhandenen Kleinlebewesen hervorgerufen werden.

Im allgemeinen jedoch, wenn auch mit einiger Einschränkung, läßt sich auf Grund der bisherigen Forschungen der ziemlich einleuchtende Grundsatz aufstellen, daß die Hochsee der warmen und gemäßigten Breiten mehr Keime beherbergt als die polaren Meere, in denen von mehreren Forschern nur recht wenige Keime gefunden worden sind.

Wenn ich im folgenden auf die Besprechung der einschlägigen Literatur ausführlicher eingehe, so glaube ich um so mehr Veranlassung dazu zu haben, als bisher eine derartige Zusammenstellung meines Wissens nicht vorhanden ist. Das vorliegende Material findet sich fast ausnahmslos in großen Sammelberichten über Forschungsreisen, die an und für sich nicht nur schwer zugänglich sind, sondern bei denen es auch manchmal nicht ganz leicht ist, die gerade auf bakteriologische Untersuchungen bezüglichen Mitteilungen aufzufinden.

Die ersten genaueren Angaben über Zahl und Art der im Meerwasser vorhandenen Keime verdanken wir den Untersuchungen B. Fischers, die er gelegentlich der Plankton-Expedition sowie bei verschiedenen anderen Reisen im atlantischen Ozean bis in die isländischen Gewässer, in der Nordsee und in der Ostsee ausgeführt hat. Fischer fand in der Sargasso-See, 400 Seemeilen vom Lande entfernt, die für Meerwasser enorm hohe Zahl von 28000 Bakterien in 1 ccm. Im Golfstrom konnte er unter 35° 40' nördlicher Breite und 41° 40' westlicher Länge in der gleichen Menge 2500 Keime nachweisen. Im weiteren Verlauf der Strömung, in der Richtung auf die Azoren, Spanien und Frankreich, aber immer in Entfernungen von 130—240 Seemeilen von der Küste, fand er 645—5660 Bakterien in 1 ccm. Mehrere Untersuchungen im Kanal lieferten 400—1120, in der Nordsee 538—3030 und in der Ostsee 1057 Keime in der gleichen Wassermenge. Erheblich geringere Mengen stellte er dagegen bei den Hebriden (12—70 im Kubikzentimeter) und im Südosten und Südwesten von Island (24—26 im Kubikzentimeter) fest. Als Mittel von 121 Beobachtungen im Ozean fand er 868 Keime in 1 ccm.

Besonders hoch ist nach Fischer der Keimgehalt an den Rändern eines Strömungsgebietes oder da, wo verschiedene Strömungen

zusammenstoßen, vielleicht wegen des dort vorhandenen reichlichen Nährmaterials (infolge massenhaften Absterbens organischen Lebens) oder deswegen, weil an diesen Stellen aus der Tiefe aufsteigende, sekundär bedingte Strömungen keimreichere Schichten empor befördern.

Daß im oberflächlichen Wasser vielfach weniger Keime enthalten sind als in mäßigen oder größeren Tiefen, führt Fischer vorzugsweise auf die abtötende Wirkung der Sonnenstrahlen zurück; am Morgen sei daher der Keimgehalt an der Oberfläche größer als am Abend, bei bedecktem Himmel und Nebel größer als bei Sonnenschein; starker Seegang hebe durch Mischung des oberflächlichen und tieferen Wassers diese Unterschiede wieder auf.

Die von Fischer für seine Untersuchungen angewandte Technik berücksichtigte alle Vorsichtsmaßregeln, die zur Erzielung einwandfreier Resultate notwendig sind. Er bediente sich für den Bakteriennachweis des Plattenverfahrens und verwandte Agar- und Gelatinenährboden, die mit Seewasser und Fischbouillon hergestellt waren.

Morphologisch fand er meist Stäbchenbakterien, die sich durch auffallende Mannigfaltigkeit in Form und Größe auszeichneten. Am häufigsten waren Kurzstäbchen zu beobachten, während kokkenartige Gebilde seltener waren. Sproßpilze wurden, wenigstens in den höheren Breiten, des öfteren angetroffen, und zwar meist dann, wenn im großen und ganzen ein niedriger Keimgehalt zu beobachten war.

Alle Arten der gefundenen Bakterien besaßen lebhafte Eigenbewegung, alle schienen gramnegativ zu sein. Als weiteres wertvolles Unterscheidungsmerkmal gegenüber den Keimen, die nicht dem Meer entstammen, glaubt er ihre halophilen Eigenschaften ansehen zu dürfen.

Eine Bestätigung der Fischerschen Mitteilungen finden wir in den Angaben Gräfs, die dieser über seine Untersuchungen im atlantischen und indischen Ozean und in den chinesischen Meeren auf der Forschungsreise des Schiffes „Planet“ macht.

Auch Gräf bediente sich der von Fischer benutzten Nährmedien, die aus Fischbouillon, Seewasser und entsprechendem Zusatz von Agar (2 Proz.) oder Gelatine (10 Proz.) hergestellt wurden.

Seine Beobachtungen über den Einfluß der Landnähe, der Meeresströmungen und das Zusammentreffen mehrerer Strömungen decken sich nahezu mit den Angaben Fischers. Ebenfalls schließt er sich bezüglich der Morphologie der Meerwasserkeime der Ansicht Fischers an, nur will er die von jenem wenig beobachteten Mikrokokkenarten nicht so sehr selten gefunden haben. Wenn im Durchschnitt die von Gräf ermittelten Keimzahlen etwas hinter den Fischerschen zurückbleiben, so will das angesichts der örtlichen Unterschiede der Untersuchungen nichts besagen.

Gräf fand an 24 Stellen auf Hochsee im Durchschnitt 42 Keime, und an 12 Stellen in Landnähe im Durchschnitt 1800 Keime im Kubikzentimeter. Es sei aber darauf hingewiesen, daß zu den Untersuchungen „in Landnähe“ oder zu den „Randmeeren“ noch Positionen gerechnet werden, die 110 Seemeilen von der Küste entfernt waren, und wo 6000 Keime im Kubikzentimeter nachweisbar waren. Ueber den außerordentlichen Keimreichtum des Hafenwassers geben die Untersuchungen von Lissabon mit 54000 und von St. Vincent mit 15000 im Kubikzentimeter Aufschluß.

Albert I., Fürst von Monaco, der eine größere Reihe wissenschaftlicher Forschungsreisen unternommen hat, fand in den Monaten

Juli bis September 1902 im atlantischen Ozean in der Nähe der Küsten (Kanarische Inseln, Kap Verdische Inseln, Madeira) beträchtliche Mengen von Bakterien im Oberflächenwasser, erheblich weniger auf Hochsee. Besonderes Interesse in Anbetracht der entsprechenden Verhältnisse in polaren Gegenden verdienen aber die Untersuchungsbefunde, die er über den Darminhalt verschiedener Tiere (Wirbel- und wirbelloser Tiere) mitteilt: Er fand den Verdauungskanal, gleichgültig, ob die Tiere an der Meeresoberfläche oder in größeren Tiefen gefangen worden waren, stets sehr reich an Mikroben. Ebenfalls enthielt die freie Bauchhöhle bei Haifischen, wie durch zahlreiche Versuche erwiesen wurde, fast immer Bakterien.

Auch die Ergebnisse der Untersuchungen von Otto und Neumann gelegentlich einer Reise nach Südamerika decken sich im großen und ganzen mit den Befunden der vorgenannten Forscher. Otto und Neumann haben ihre Wasserproben meist in einer Tiefe von 5 m geschöpft. Aus ihren Aufzeichnungen läßt sich nicht mit Sicherheit folgern, daß mit zunehmender Tiefe der Bakteriengehalt größer wird. Wohl aber bestätigen beide Autoren die außerordentlich hohe Keimzahl in Landnähe im Vergleich zur Hochsee. Dieser Einfluß der Landnähe macht sich bei einer Untersuchung, die bei Leixoes stattfand, noch in einer Entfernung von 6 Seemeilen von der Küste mit 10000 Bakterien im Kubikzentimeter geltend. Die auf Hochsee, quer über den atlantischen Ozean, ermittelte Keimzahl schwankt zwischen 20 und 120; qualitativ fanden sich Coli-ähnliche Bacillen, Fluorescens, Proteus-ähnliche, Vibrionen und Schimmelpilze.

Erwähnt seien endlich noch die Befunde von Minervini, die er aus dem Wasser des atlantischen Ozeans zwischen Gibraltar und New-York erhoben hat. Er glaubt folgern zu dürfen, daß der Bakteriengehalt auf Hochsee nicht viel geringer ist als einige Meilen von der Küste. Seine Zahlen können allerdings nicht als beweisend angesehen werden, da zwischen Wasserentnahme und Untersuchung eine Zeit von 8–10 Tagen lag, während der das Wasser bei einer Temperatur von  $+3^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt wurde.

Indirekt sind in beschränktem Maße für eine Beurteilung des Meerwassers in bezug auf seinen Keimgehalt vielleicht auch die Befunde der verschiedenen Plankton-Expeditionen zu verwerten, da, wenigstens für einige Teile des Meeres, die Mengenverhältnisse zwischen den niederen und höheren Organismen studiert worden sind. Freilich ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß zeitliche Verschiebungen (Klima!) dieses Verhältnis in hohem Grade umgestalten können. Es kann also durch derartige Berechnungen nur ein ganz grober Rückschluß auf den Bakteriengehalt gemacht werden, aber es zeigt sich doch, daß aus den Berichten der Planktonforscher auf diese Weise zum Teil Zahlen zu gewinnen sind, die mit den Befunden der obengenannten Autoren sehr wohl in Einklang gebracht werden können.

Wesentlich besser als die Meere der gemäßigten und warmen Breiten sind die der polaren Gebiete auf ihre Bakterienflora durchforscht worden.

Eine Anzahl großer Expeditionen mit Fachleuten aller Zweige der Naturwissenschaften und mit der vollständigen Ausrüstung des modernen Laboratoriums sind, durch staatliche Zuschüsse reich unterstützt, von den verschiedenen europäischen Nationen in die arktischen, besonders aber in die antarktischen Gegenden ausgesandt worden.



Bei diesen Forschungen hat man sich nicht nur darauf beschränkt, den Bakteriengehalt des Meerwassers zu untersuchen, sondern es sind auch das Süßwasser (Schneesmelzwasser), der Erdboden, die Schlamm-pfützen auf Treibeisschollen, der Darminhalt polarer Tiere und die Luft berücksichtigt worden.

Was den Keimgehalt der Luft über dem Festlande in unseren Breiten anbelangt, so ist durch die Untersuchungen von Hahn und von Flemming bekannt, daß er besonders stark im Bereich der Großstädte ist, und daß sich, je nach den Windverhältnissen, deren Einfluß auch auf große Entfernungen und in beträchtlichen Höhen bemerkbar macht. Auffallend viel Keime sind nach Flemming an der Wolkengrenze vorhanden. Von besonderem Interesse für die vorliegenden Betrachtungen sind die Luftuntersuchungen über dem Meere, wie sie von Fischer und später von Flemming ausgeführt wurden. Beide Forscher kommen zu dem Ergebnis, daß die Seeluft mit fortschreitender Entfernung vom Lande immer reiner wird und schließlich nur noch ganz vereinzelt Keime enthält. Flemming glaubt aus seinen Beobachtungen sogar folgern zu dürfen, daß mit der Abnahme der Spaltpilze auf hoher See eine relative Zunahme der Sproß- und Schimmelpilze parallel gehe. Jedenfalls geben diese Untersuchungen geeignete Vergleichswerte gegenüber den Befunden, wie sie in den antarktischen und arktischen Gebieten von den verschiedenen Forschern erhoben worden sind.

Im folgenden seien die bakteriologischen Ergebnisse der Polar-expeditionen kurz wiedergegeben.

1. Schwedische Südpolar-Expedition 1901—1903. Untersuchungsstation Snow Hill (64° 22' südl., 57° westl. Greenwich). Berichterstatte Dr. Ekelöf.

**Meerwasser:** Im Durchschnitt von 27 Untersuchungen wurden in 1 ccm 4,4 Keime gefunden; 6mal erwies sich die Probe überhaupt als steril; das beobachtete Maximum waren 21 Bakterien in 1 ccm. Die Wassertemperatur betrug —1° bis —2° C.

**Morphologisch** wurden meist kommaartige Bacillen und andere Stäbchenformen beobachtet. E. betont, daß er auffallend wenig verflüssigende Keime gefunden habe.

Zur Bestimmung der in der Luft vorhandenen Bakterien wurden Schalen mit Nährmaterial offen in größerer Entfernung vom Schiff auf dem Eise aufgestellt. Auch nach längerer Expositionszeit kamen keine oder nur vereinzelte Kolonien zur Entwicklung, die E. meist den durch den Wind aufgewirbelten Erdpartikeln zuzuschreiben geneigt ist.

Die sehr eingehenden Untersuchungen des Erdbodens beweisen, daß der Bakteriengehalt in den einzelnen Monaten außerordentlich hohen Schwankungen unterliegt. Während in den Wintermonaten im Durchschnitt etwa 7000 Keime in einem Kubikzentimeter gefunden wurden, zeigte sich in den beiden eigentlichen Sommermonaten Dezember und Januar ein Gehalt von durchschnittlich 78000 (Dezember 35900, Januar 120800). In einer Tiefe von 10 cm war der Boden jedoch keimfrei. Zur Zeit der Schneeschmelze werden mit den oberflächlichen Erdschichten sehr große Mengen von Keimen ins Meer geschwemmt<sup>1)</sup>.

1) Vergleichsweise sei erwähnt, daß in unseren Breiten die Zahl der in den oberflächlichen Erdschichten vorhandenen Keime nach verschiedenen Autoren 650000 bis 2800000 für 1 ccm beträgt.

Morphologisch setzten sich die Erdbakterien zusammen aus Kokken, Diplokokken und verschiedenen Bacillenarten, einigen sarcine- und schimmelähnlichen Gebilden.

Im Darmkanal von *Megalestris antarctica* (Raubmöve) wurden 2mal kurze, plumpe Stäbchen mit lebhafter Eigenbewegung beobachtet. Sie entfärbten sich nach Gram nur unvollständig. Der eine Stamm verflüssigte Gelatine langsam; der andere bewirkte auch nach 40 Tagen keine Verflüssigung. Entsprechende Untersuchungen bei verschiedenen Pinguinarten, bei Seeschwalben und Kormoranen ergaben keimfreien Darminhalt.

2. Deutsche Südpolarexpedition 1902—1903. Untersuchungsstationen bei der Kergueleninsel ( $49^{\circ}$  südl.,  $70^{\circ}$  östl. Greenw.) und bei der Heardinsel ( $53^{\circ} 30'$  südl.,  $73^{\circ} 30'$  östl. Greenw.). Bericht-erstatte Dr. Gazert.

Im Wasser des freien Ozeans fanden sich 1—10 Keime, südlich der Heardinsel wurde völlige Keimfreiheit beobachtet, das Wasser einer angelaufenen Bay der Kergueleninsel enthielt 10—30 Bakterien im Kubikzentimeter. In der Umgebung des ruhig liegenden Schiffes, wo das Wasser durch sehr viel Abfälle verunreinigt wurde, waren trotz einer Temperatur von  $0^{\circ}$  stets sehr viel Keime nachweisbar. Das aus einer Tiefe von 800 m geschöpfte Wasser war sehr keimarm (1—3 in 10 ccm) oder keimfrei, dagegen wurden in den obersten Schichten des Meeresbodens selbst in einer Tiefe von 4000 m noch zahlreiche Bakterien beobachtet. Im Wasser des moorigen Bodens der Kergueleninsel wurden dagegen zahlreiche Keime, mehrfach über 100 in 1 ccm, nachgewiesen.

Die Luft, die in der Weise untersucht wurde, daß frisch gefallener Schnee auf Nährplatten gebracht wurde, erwies sich als steril.

Bei der Untersuchung des Darminhaltes fanden sich bei Robben im Dickdarm stets, weniger häufig im Dünndarm und im Magen Bakterien. Eine Reihe von Vögeln (Pinguine, Sturmvögel, Seeschwalben) beherbergten in ihrem Darm weder aërob noch anaërob wachsende Keime.

3. Expédition antarctique française 1903—1905.

Aus dem oberflächlichen Meerwasser wurden zwei Kokkenarten, drei Bacillenarten und zwei Hefe- oder *Torula*-ähnliche Kulturen gezüchtet. Der Darm verschiedener Seehunde, Vögel und Fische enthielt, wenn auch erheblich weniger als in gemäßigten Breiten, so doch stets Bakterien, und es gelang, 24 verschiedene Arten reinzuzüchten, von denen 15 als bekannte Bakterien festgestellt werden konnten, während es sich bei den übrigen scheinbar um noch nicht beschriebene Arten handelte.

4. Scottish National Antarctic Expedition 1902—1904. Untersuchungsstation: Süd-Orkneyinseln ( $61^{\circ}$  südl.,  $45^{\circ}$  westl. Greenw.). Bericht-erstatte J. H. Harvey Pirie.

Im oberflächlichen Meerwasser wurden 35, 112, 170 und 334 Bakterien in 1 ccm nachgewiesen. Das Tiefenwasser ergab bei 2000 Faden 2, bei 2485 Faden 1 Kolonie aus etwa 5 ccm. Besonderes Gewicht legte Pirie auf den Nachweis von nitrifizierenden und denitrifizierenden Bakterien, die für die chemischen Umsetzungsvorgänge im Meere von sehr großer Bedeutung sind. Nitrifizierende Bakterien konnte er überhaupt nicht nachweisen, dagegen wurden unter 8 geprüften Stämmen 5 ermittelt, die denitrifizierende Eigenschaften besaßen.

Die zur Ermittlung des Keimgehaltes der Luft angestellten Versuche bewiesen übereinstimmend, daß entweder überhaupt keine Bakterien oder höchstens nur ganz vereinzelte vorhanden waren.

Eine Reihe von Seehunden und Vögeln diente dem Studium der Darmflora. Pirie fand bei 13 von den untersuchten 20 verschiedenen Tierarten Bakterien und konnte verschiedentlich mehrere Stämme aus einem Tier züchten. Auch er kommt also zu dem Ergebnis, daß bei zahlreichen Tieren der Antarktis, besonders bei den Vögeln, der Darminhalt vielfach völlig steril ist, oder daß, wenn doch Keime vorhanden sind, deren Zahl sehr gering ist.

Liegen also über die Verhältnisse in der Antarktis ziemlich ausführliche Beobachtungen verschiedener Forscher vor, so sind die entsprechenden Angaben aus den arktischen Regionen noch recht spärlich. Wenn zwischen beiden Gebieten wegen ihrer physischen Analogien in vielfacher Beziehung große Ähnlichkeiten bestehen, so müssen andererseits aber auch recht große Verschiedenheiten festgestellt werden. Die Vereisung der südlichen Polarregion ist ungleich gewaltiger als die der nördlichen. Warme Strömungen, wie wir sie z. B. in der Fortsetzung des Golfstromes, der atlantischen Strömung, sehen, die dem nördlichen Eismeer bis in die höchsten Breiten organisches Leben, Nährmaterial und Wärme für dessen Unterhalt zuführt, fehlen im Süden völlig. Es müssen daher die Bedingungen, vor allem auch das Klima, für höhere und niedere Organismen im südlichen Eismeer ungleich weniger günstig sein wie im nördlichen, eine Tatsache, die durch einen größeren Artenreichtum, insbesondere durch das Vorhandensein der großen Landsäugetiere in den nördlichen Polarländern, vollauf bestätigt wird.

Sollte unter diesen Umständen anzunehmen sein, daß man die bakteriologischen Befunde der Antarktis ohne weiteres auf die Arktis zu übertragen berechtigt sei? Doch wohl kaum!

Es ist daher interessant, den aus den Berichten der Südpolar-Expeditionen gewonnenen Angaben die Befunde nordischer Forscher gegenüberzustellen:

Nyström, Arzt der Expedition von Sofia (1868), fand bei einer Reihe von Beobachtungen mit damals allerdings noch recht unzulänglichen Methoden, daß die Luft auf Spitzbergen und über dem umgebenden Meer außerordentlich rein war und frei von Fäulnis und Gärung erzeugenden Bestandteilen.

Nansen berichtet, daß er in den Löchern der Treibeis-schollen, die mit Süßwasser und Schlamm ausgefüllt waren, Algen, Infusorien, Flagellaten und Bakterien gefunden habe.

Die einzigen, in größerem Umfange und sachgemäß durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen verdanken wir Levin. Seine Tätigkeit erstreckte sich auf Spitzbergen, König Karls-Land und die Bäreninsel (Sommer 1898).

Er fand in 78 Wasserproben, die von der Oberfläche stammten, stets Bakterien; ihre Menge war aber sehr gering (Durchschnitt 1 Keim in 11 ccm Wasser). Erheblich größer war ihre Zahl in den tieferen Wasserschichten: in 60 ccm fanden sich bei 25 m Tiefe 15, in 51 ccm bei 2700 m Tiefe 39 Keime.

Morphologisch handelte es sich um Kokken, Bacillen und Spirillen.

Bei 80 Untersuchungen von Schnee- und Gletscherwasser zeigte sich ein ziemlich reichlicher Bakteriengehalt, besonders beim

Schneewasser. Die Luft fand er bei sehr zahlreichen und umfangreichen Untersuchungen als nahezu keimfrei.

Bezüglich der Darmflora konnte er bei den arktischen Tieren ähnliches finden wie die vorgenannten Forscher bei den antarktischen: die Vögel hatten, mit Ausnahme der allerdings stets infizierten weißgeflügelten Möve, ausnahmslos sterilen Darminhalt, während ein Eisbär und zwei Seehunde *Bacterium coli commune* beherbergten.

Wie die meisten übrigen Polarforscher, konnte auch Levin beobachten, daß die Mitglieder der Expedition trotz der reichlich vorhandenen Gelegenheit fast nie an Erkältungskrankheiten zu leiden hatten, eine Erscheinung, die eben mit der bakterienarmen und besonders von pathogenen Keimen überhaupt freien Luft zusammenhängen soll. Eine andere interessante Beobachtung teilt Levin noch mit, nämlich, daß die geringsten Verletzungen der Haut, besonders der Hände, für ihre Heilung eine ganz unverhältnismäßig lange Zeit beansprucht hätten. Er führt dies auf die ständige Berührung der Wunde mit dem salzreichen Meerwasser zurück. Es sei vorweg genommen, daß auch ich die gleichen Beobachtungen an mir selbst wie auch an anderen Personen vielfach gemacht habe und daß ich bereits vor der Lektüre der Arbeit Levins den gleichen Grund für die verzögerte Heilung angenommen hatte.

Fassen wir die Ergebnisse aller dieser Untersuchungen nochmals kurz zusammen, so sehen wir, daß das Meerwasser, vor allem in den Küstengebieten, eine zum Teil recht beträchtliche Zahl von Bakterien enthalten kann, daß aber auch auf hoher See, in sehr großer Entfernung vom Land, stellenweise noch recht viel Keime anzutreffen sind. Je mehr die Untersuchungsstellen sich den Polargebieten nähern, desto keimärmer wird im allgemeinen das Wasser. Der Darminhalt der polaren Tierwelt zeigt eine auffallende Keimarmut, die besonders bei den Vögeln vielfach bis zur völligen Sterilität gehen kann<sup>1)</sup>. Die Bakterien der Luft, die an und für sich auf dem Meer an Zahl sehr zurücktreten, nehmen in höheren Breiten immer mehr ab und können schließlich fast ganz verschwinden.

Alle diese Erscheinungen stehen aber in einer großen Abhängigkeit von den durch die Jahreszeiten bedingten physischen und klimatischen Verhältnissen, die sich durch ihren Einfluß auf die Meeresströmungen, auf die Schnee- und Eisverhältnisse der polaren Meere und Länder, durch Sonnenbestrahlung, Windrichtung und -stärke geltend machen.

Ueber die Bakterienflora der arktischen Gebiete ist erheblich weniger bekannt als über die der antarktischen.

Gerade mit Rücksicht auf die beiden letztgenannten Umstände glaubte ich die Gelegenheit, bakteriologische Untersuchungen im nördlichen Eismeer auf einer Fahrt nach Island, Spitzbergen und Norwegen auszuführen, nicht ungenützt vorübergehen lassen zu dürfen.

1) Diese Beobachtungen sind von besonderem Interesse für die Ernährungsphysiologie. Wenn es im Laboratorium durch mühevollen Versuche gelungen ist (Küster), den Nachweis zu erbringen, daß bei den höheren Wirbeltieren eine normale Entwicklung auch ohne Beihilfe von Bakterien möglich ist, so erfahren diese Experimente durch die Befunde steriler Verdauungswege unter natürlichen Verhältnissen eine wertvolle Bestätigung.

Diese, vom Norddeutschen Lloyd in Bremen veranstaltete „Polarfahrt“ begann am 5. Juli und endete am 3. August 1913. Der „Große Kurfürst“ hatte etwa 380 Passagiere an Bord, die in bequemer und ungefährlicher Weise in die Gletscherpracht der höchsten nördlichen Breiten vordringen wollten, und ich glaube, daß alle, auch trotz hochgespanntester Erwartungen, auf ihre Rechnung gekommen sind.

Da auch ich nicht in letzter Linie diese Reise der Erholung widmen wollte und von vornherein noch nicht feststand, ob es überhaupt möglich sein würde, wissenschaftliche Untersuchungen auszuführen, mußten sich meine Vorbereitungen innerhalb gewisser Grenzen bewegen und ich mußte mich auf die unbedingt notwendigen Hilfsmittel des bakteriologischen Laboratoriums beschränken.

Der Firma E. Leitz, Wetzlar, verdanke ich die außerordentlich liebenswürdige Ueberlassung eines Reisetaschenmikroskops mit zweifachem Revolver und Objektiv 3 und 6. Es leistete mir für die Beurteilung der Bakterienkolonien und die vorläufigen Untersuchungen vorzügliche Dienste. Da das Instrument mit einer Vorrichtung versehen ist, durch die es am Tisch festgeschraubt wird und mein Untersuchungsraum in dem an sich ruhigsten Teile des mittleren Schiffs gelegen war, beeinträchtigten selbst die bisweilen etwas stärkeren Bewegungen des Schiffs das Arbeiten in keiner Weise.

An sonstigen Hilfsmitteln standen mir zu Gebote: Petrischalen, Pipetten, Platinöse, Spiritusbrenner, ein chirurgisches und mikroskopisches Besteck, ein kleiner Trockenschranksterilisator u. a. Das Sterilisieren der Glassachen habe ich übrigens später mit völliger Sicherheit in einem zeitweise unbenutzten Backofen bei 200° vorgenommen. Im Bedarfsfalle, wenn es sich um solche Keime handelte, die für ihr Wachstum eine höhere Temperatur erforderten, diente zum Bebrüten der Platten ein im Maschinenraum ermittelter Platz, wo nahezu gleichmäßig eine Temperatur von 35° C herrschte.

Für die bereitwillige Ueberlassung einer Anzahl verschiedener Nährmaterialien (Gelatine, Agar, Drigalskiagar, Fischgelatine<sup>1)</sup> und Fischagar<sup>1)</sup>) bin ich der Firma E. Merck in Darmstadt zu aufrichtigem Dank verpflichtet. Sie haben sich ausgezeichnet bewährt, und als besonders zweckmäßig muß ich bezeichnen, daß die Röhrchen zum Teil zugeschmolzen waren und erst beim Gebrauch nach leichtem Anritzen mit einer Feile geöffnet wurden. Es verhindert das Zuschmelzen ein bei längeren Reisen unvermeidliches, starkes Austrocknen der Masse. Auf mein besonderes Ersuchen hatte mir die Firma einige abgewogene Packungen von Ragitagar in Pulverform zur Verfügung gestellt. Je eine Packung (4,2 g) wurde mit etwas kaltem Seewasser zu einem dünnen Brei verrührt und nach langsamem Zugießen einer Gesamtmenge von 100 ccm Wasser einige Minuten gekocht. Die kochend heiße Flüssigkeit wurde in sterile Reagenzröhrchen gegossen. Nach dem Erstarren war es eine leicht getrübbte, etwas dunkler als Agar aussehende Masse von gewöhnlicher Agarkonsistenz, die sich als ein vorzügliches Nährmaterial für die dem Wasser entstammenden Keime erwies. Auf Neutralisieren und Filtrieren mußte ich natürlich verzichten, es hat jedoch diese Unterlassung scheinbar keine nachteiligen Folgen gehabt. Wenn auch der nicht filtrierte Nährboden von zahlreichen feinen Flocken durchsetzt war, so bestand doch keine Gefahr einer Verwechslung dieser Flocken mit Kolonien.

1) Aus Fischbouillon mit 3 Proz. Seesalzzusatz hergestellt.

Waren also meine Hilfsmittel auch bescheiden, so durfte ich sie dennoch als ausreichend ansehen für quantitative Wasseruntersuchungen, Luftuntersuchungen und Prüfung des Darminhaltes von Tieren, für deren Erbeutung ich eine Zentralfeuerdoppelflinte Kal. 16 mitführte.

Immerhin aber wäre es mir nicht möglich gewesen, meine Untersuchungen auszuführen, wenn ich nicht in dem weitgehenden Entgegenkommen des Kapitäns, Herrn Dietrich, und des 1. Offiziers, Herrn Spangenberg, eine so wertvolle Unterstützung gefunden hätte. Es wurde mir im Zwischendeck ein eigener Raum eingerichtet, in dem ich ungestört arbeiten konnte, und auch sonst wurden meine Versuche in jeder nur denkbaren Weise von den oben genannten Herren und von den übrigen Herren Offizieren des „Großen Kurfürsten“ gefördert. Es ist mir eine angenehme Pflicht, ihnen allen nochmals meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Zu besonderem Dank bin ich ferner dem Offizier Herrn Liebermann v. Sonnenberg für die lebenswürdige Ueberlassung seiner meteorologischen Aufzeichnungen verpflichtet.

Die Untersuchung des Seewassers wurde in der Weise vorgenommen, daß von dem vordersten Teil des Oberdecks mit einem Segeltuchschöpfer eine Menge von 5–6 l Wasser emporgeholt wurde. Mit einer sterilen Pipette wurden sofort 1–2 ccm entnommen, in sterile Petrischalen gebracht und mit den verschiedenen Nährmedien zu Platten verarbeitet. Eine Verunreinigung des von mir geschöpften Wassers vom Schiff aus war nach Lage der Verhältnisse unmöglich. Das Untersuchungsmaterial muß demnach als einwandfrei bezeichnet werden.

Wohl aber wird mir vielleicht der Vorwurf gemacht werden, daß ich, entgegen den Anweisungen Fischers, mein Schöpfgefäß nicht vor jedem Gebrauch sterilisiert habe. Ich erkenne die Berechtigung der Fischerschen Forderung voll und ganz an, muß aber doch betonen, daß zwischen einem Holzgefäß, wie es Fischer für die Versuche, mit denen er die Notwendigkeit jedesmaliger Sterilisation nachwies, verwandt hat, und zwischen einem Segeltuchschöpfer ein großer Unterschied besteht. Wenn Fischer fand, daß das mit einem nicht sterilisierten Holzeimer geschöpfte Wasser stets höhere Keimzahlen lieferte als das mit sterilen Gefäßen entnommene, so dürfte die Ursache wohl in hohem Maße in einer Keimvermehrung in dem rückständigen Eimerwasser und in den Fugen und Spalten des Holzes mit ihren zahllosen Kapillarräumen zu suchen sein.

Diese Fehlerquelle fiel bei meinen Untersuchungen weg, da das Gefäß sofort nach Gebrauch völlig geleert und zum Trocknen aufgehängt wurde. Ferner wurde vor jeder Benutzung der Schöpfer mehrfach im Meerwasser ausgeschwenkt und erst dann das zu untersuchende Wasser heraufgeholt. Schließlich wurde aus den mittelsten Schichten einer 5–6 Liter betragenden Flüssigkeit die kleine zu verarbeitende Menge mit steriler Pipette entnommen, eine weitere Maßnahme, um zu verhüten, daß etwaige an den Wandungen haftende Bakterien meine Ergebnisse in nennenswerter Weise beeinträchtigen könnten.

Aus den gefundenen Tatsachen glaube ich denn auch schließen zu dürfen, daß dieses Ziel erreicht wurde; die außerordentlich großen Verschiedenheiten der an verschiedenen Orten ermittelten Keimzahlen, die ausgesprochenen halophilen Eigenschaften der gezüchteten Kulturen, die Uebereinstimmung der Befunde mit solchen, die unter absolut sterilen

Bedingungen erhoben worden waren, sprechen in diesem Sinne. Im folgenden sind die Untersuchungsergebnisse des Meerwassers, des Darminhaltes verschiedener arktischer Vögel und der Luft im einzelnen zusammengestellt.

### Der Keimgehalt des Meerwassers.

Für die notwendige Orientierung und für die Beurteilung der folgenden Angaben habe ich es für notwendig erachtet, eine Karte zu entwerfen, in der die Reiselinie, die Wasserentnahmestellen, die Meeresströmungen und die Packeisgrenze eingezeichnet sind. Die Reiselinie ist fein punktiert, die Untersuchungsstationen sind durch einen großen schwarzen Punkt bezeichnet, die daneben stehende Zahl entspricht der Nummer der Untersuchungsstation, bzw. der „Laufenden Nummer“ in Tabelle I. Auf die übrigen, in der Karte vorhandenen Einzeichnungen werde ich später zu sprechen kommen.

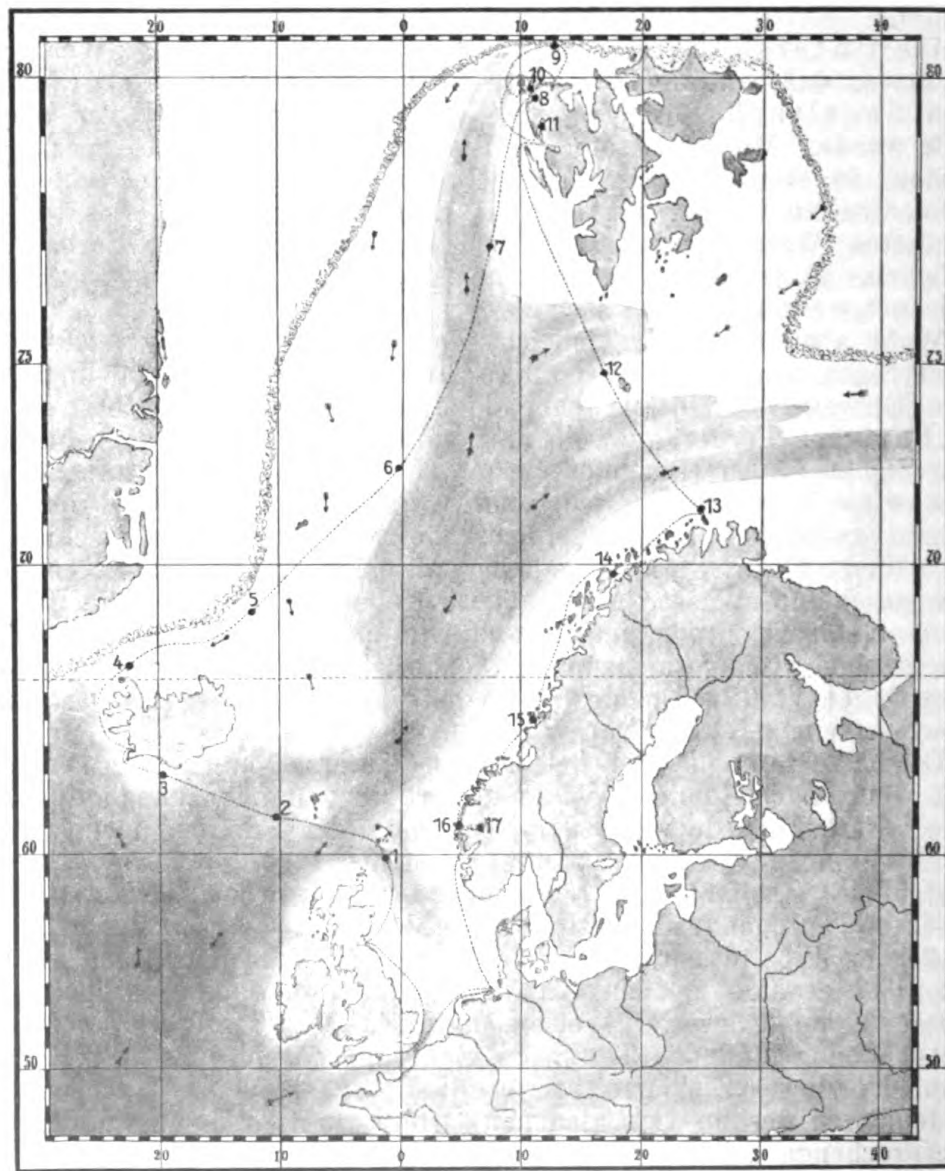


Fig. 1.



Fast sämtliche Untersuchungen sind gleichzeitig mit den drei verschiedenen Nährmedien, Fischagar, Fischgelatine und gewöhnliche Gelatine, ausgeführt worden; sie sind der Reihenfolge nach mit genauer Angabe der Entnahmestelle und mit einigen meteorologischen Aufzeichnungen in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.  
(Die Keimzahlen beziehen sich auf 1 ccm Wasser.)

Lfd. No.	Tag und Stunde	Entnahmestelle	Bewölkung	Seegang	Wassertemperatur	Fischagar	Fischgelatine	Gewöhnliche Gelatine	Ragitar
1	9. 7. 12 <sup>15</sup> N.	59° 45' N. 1° 29' W.	4	2	11,0°	276	2 430	2 430	—
2	10. 7. 10 <sup>30</sup> V.	61° 30' N. 10° 15' W.	4	2	12,0°	222	4 590	verflüssigt	—
3	11. 7. 11 <sup>30</sup> V.	63° 30' N. 19° 50' W.	10	4	9,5°	46	135	90	—
4	14. 7. 12 <sup>00</sup> M.	66° 42' N. 22° 27' W.	10	3	1,8°	66	133	170	—
5	15. 7. 2 <sup>45</sup> N.	68° 32' N. 12° 24' W.	3	3	4,5°	45	230	142	—
6	16. 7. 3 <sup>00</sup> N.	72° 19' N. 0° 50' W.	4	4	2,6°	700	900	720	—
7	17. 7. 12 <sup>00</sup> M.	77° 5' N. 7° 33' O.	10	2	4,0°	1500	1 500	1 500	—
8	18. 7. 5 <sup>00</sup> N.	Magdalenenbay	—	—	—	125	600	450	—
9	19. 7. 11 <sup>00</sup> V.	80° 10' N. 12° 40' O.	0	2	3,0°	900	verflüssigt	8 100	—
10	19. 7. 7 <sup>00</sup> N.	Virgohafen	—	—	—	120	340	150	—
11	21. 7. 6 <sup>00</sup> N.	Möllerbay	—	—	—	95	235	—	—
12	22. 7. 2 <sup>40</sup> N.	74° 42' N. 17° 20' O.	10	3	5,0°	510	3 000	—	—
13	23. 7. 2 <sup>40</sup> N.	71° 24' N. 25° 5' O.	4	6	9,8°	2700	verflüssigt	4 590	—
14	25. 7. 3 <sup>30</sup> N.	69° 36' N. 17° 53' O.	9	4	7,7°	8100	verflüssigt	7 500	—
15	26. 7. 2 <sup>45</sup> N.	65° 2' N. 12° O.	10	3	10,5°	7200	7 200	10 260	7 560
16	29. 7. 9 <sup>45</sup> V.	61° 2' N. 4° 22' O.	3	2	9,4°	9180	10 040	9 720	8 100
17	29. 7. 2 <sup>15</sup> N.	Vangsnaes (Sogneljord)	3	—	12,0°	—	verflüssigt	—	10 800

Es zeigen sich in der Tabelle zunächst insofern große Verschiedenheiten, als die für die gleichen Wasserproben gefundenen Werte je nach Art des Nährmediums sehr voneinander abweichen, und zwar in dem Sinne, daß die (Fisch-)Agargußplatten fast durchgehends erheblich weniger Keime enthalten als die mit Gelatine und Fischgelatine hergestellten, eine Erscheinung, die ja auch unter gewöhnlichen Bedingungen aus dem Laboratorium hinlänglich bekannt ist. Wenn trotzdem in einzelnen Fällen die in den Gelatineplatten gewachsenen Keime an Zahl von den Agarkulturen erreicht, bei No. 14 sogar übertroffen werden, so ist die Ursache zum Teil sicher darauf zurückzuführen, daß die Auszählung, die im großen und ganzen gleichzeitig am 4. Tage vorgenommen wurde, bei den Gelatineplatten mehrfach infolge rasch einsetzender Verflüssigung bereits vor dieser Zeit erfolgen mußte. Auf den Agarplatten haben sich



dann nach diesem Zeitpunkte noch eine Anzahl von Kolonien entwickelt.

Ein Vergleich der Zahl der Keime, die auf Fischgelatine gewachsen waren, mit der der gewöhnlichen Gelatineplatten scheint in der Mehrzahl der Fälle zugunsten der Fischgelatine zu sprechen, und auch die bei der letzteren fast stets zu beobachtende stärkere Verflüssigung zeigte, daß die mit 3 Proz. Seesalz hergestellte Fischgelatine den halophilen Meerwasserbakterien günstigere Bedingungen bot.

Von den mit Ragitagar verarbeiteten Proben finden sich in Tabelle I nur drei Ergebnisse, von denen zwei den gleichzeitig angelegten Fischagarplatten zahlenmäßig ungefähr entsprechen. Bei No. 17 konnte, da der Vorrat an Fischagar erschöpft war, keine Paralleluntersuchung mehr vorgenommen werden. Ueber weitere Versuche mit Ragitagar wird später berichtet werden.

Ein genaues Zahlenverhältnis zwischen den auf den verschiedenen Nährmedien gewachsenen Keimen geht aus Tabelle II hervor. Sie wurde in der Weise gewonnen, daß die Zahl der auf Fischagar entwickelten Kolonien gleich 1 gesetzt, für Fischgelatine-, Gelatine- und, bei No. 15 und 16, für Ragitplatten der Quotient berechnet wurde.

Tabelle II.

Lfd. No.	Fischagar	Fischgelatine	Gewöhnliche Gelatine	Ragitagar
1	1	8,8	8,8	—
2	1	20,7	—	—
3	1	2,9	2,0	—
4	1	2,0	2,6	—
5	1	5,1	3,1	—
6	1	1,3	1,0	—
7	1	1	1	—
8	1	4,8	3,6	—
9	1	?	9	—
10	1	2,8	1,25	—
11	1	2,5	—	—
12	1	5,9	—	—
13	1	?	1,7	—
14	1	?	0,9	—
15	1	1	1,4	1,05
16	1	1,1	1,06	0,9
17	1	?	?	?

Wenn diese Zahlen selbstverständlich zum Teil durch eine bisweilen schneller einsetzende Verflüssigung der Gelatine, die eine frühere Auszählung notwendig machte, fehlerhaft beeinflußt werden, so scheint doch aus ihnen hervorzugehen, daß der Quotient auf hoher See erheblich größer ist als in den Randmeeren oder im Gebiet von Küstenströmungen (No. 3, 4, 8, 10, 11, 13—17). Insonderheit macht es den Eindruck, als ob im Bereich der atlantischen Strömung und in ihren Grenzgebieten die Zahl der Keime, die auf Gelatine besonders gut gedeihen, verhältnismäßig höher sei. Eine Abhängigkeit des Quotienten von der geographischen Breite läßt sich nicht ersehen. Ich möchte aber diese Folgerungen nur mit großem Vorbehalt ausgesprochen haben, zumal eine biologische Deutung derselben kaum zu geben ist.

Was nun die Ergebnisse der Untersuchungen 1—17 anbelangt, so fallen auf den ersten Blick die außerordentlichen Verschiedenheiten des Keimgehaltes an den einzelnen Stationen auf;

die Zahl der in 1 ccm Wasser vorhandenen Keime schwankt, wenn die Befunde der Fischagarplatten zugrunde gelegt werden, zwischen 45 und 9180.

Wie die Tabelle I zeigt, kann auch von einer nahezu gleichmäßigen Abnahme der Keimzahl mit zunehmender Breite keine Rede sein. Wenn es auch bei den Untersuchungen No. 3—5 in der Umgebung von Island den Anschein haben könnte, als ob die hier zu beobachtende Abnahme gegen No. 1 und 2 in diesem Sinne aufzufassen sei, so beweisen doch die weiter nördlich ausgeführten, folgenden Untersuchungen das vollkommene Gegenteil.

Ebenso sind auch die in den Küstengebieten von Spitzbergen ausgeführten Untersuchungen No. 8, 10 und 11 mit ihren verhältnismäßig niedrigen Keimzahlen nicht als Stütze für eine mit zunehmender Breite angenommene zunehmende Keimarmut aufzufassen, wie aus dem an der äußersten Grenze des offenen Meeres, am Packeis, bei 80° 10' gefundenen reichen Keimgehalt hervorgeht.

Darf also der Einfluß der geographischen Breite auf den Keimgehalt des nördlichen atlantischen Ozeans und des nördlichen Eismeres ausgeschaltet werden, so scheinen die in der Karte auf Grund neuester Forschungen (Supan, Pettersson) eingetragenen Strömungsverhältnisse im Meere eine Erklärung dieser auffälligen Tatsachen nahezulegen.

Die atlantische Strömung (in der Karte dunkel schattiert) ist die Fortsetzung des für das Klima Europas so bedeutsamen Golfstromes. Sie führt gewaltige Wassermengen von ziemlich beträchtlichem Salzgehalt (35,25 Prom.) und von erhöhter Temperatur nach dem nordatlantischen Ozean. Die unterseeischen Bänke zwischen Island und Schottland, die sich dem atlantischen Strom als Hindernis in den Weg legen, drängen ihn stark nach Osten ab, so daß er eigentlich nur über die Wyville Thomson-Bänke und durch den Sund zwischen den Färoer- und den Shetlandinseln freien Zutritt zum Polarmeer hat. Die Hauptmasse des atlantischen Wassers nimmt daher diese östlichere Richtung, während ein geringerer Teil auch westlich von Färoer in das Nordmeer vordringt.

Diese östliche Ablenkung des atlantischen Stromes wird auch mit dem Umstand in Zusammenhang gebracht, daß der grönländische Eisstrom (in der Karte mit den vom westlichen Packeis ausgehenden Pfeilen gekennzeichnet) vor seinem Eintritt in die Dänemarkstraße sich in eine westliche und in eine östliche Strömung teilt. Die östliche, der ostisländische Polarstrom, fließt zwischen Island und Jan Mayen nach Südost und schiebt sich wie ein Keil dem atlantischen Strom in die Flanke (s. Karte!).

Im weiteren Verlauf nach Norden verfolgt die atlantische Strömung eine etwa nordnordöstliche Richtung und gibt einige rein östliche Aeste ab, die noch über Nowaja Semlja hinaus nachweisbar sind. Die Hauptmasse des Stromes wendet sich jedoch nach Norden und hält westlich von Spitzbergen eine eisfreie Rinne offen. Während im allgemeinen in diesen Breiten das salzreiche atlantische von dem salzärmeren und daher leichteren arktischen Wasser überlagert wird, so ist, zeitweise wenigstens, die warme Oberflächenschicht nordwestlich und nördlich von Spitzbergen noch jenseits des 80. Grades und östlich der Bäreninsel bis zum 75. Breitengrad beobachtet worden (Supan). Wenn dies ungefähr in großen Zügen der Verlauf der atlantischen Strömung ist, so muß dem noch hinzugefügt werden, daß sie in verschiedenen Teilen des Nordmeeres die Neigung zu cyclonischen Kreisströmungen hat, wahrscheinlich auch zwischen Grönland, Spitzbergen und Jan Mayen.

Wie nun die Karte zeigt, liegen die Untersuchungsstationen 6, 7, 9, 12 und 13, die durchgehends einen recht hohen Keimgehalt ergeben hatten, mit unverkennbarer Regelmäßigkeit in den Grenzgebieten der atlantischen Strömung, d. h. dort, wo diese mit dem kalten, von Norden oder von Osten her kommenden Wasser zusammentrifft. Es scheint an diesen Stellen die im Wasser vorhandene Keimzahl sogar

noch größer zu sein als in den viel südlicher gelegenen Stationen 1 und 2 im Bereich der atlantischen Strömung selbst. Diese Beobachtung würde sich vollkommen decken mit den von Fischer und Gräff bereits ermittelten Tatsachen. Die von jenen Forschern bereits gegebene Erklärung der Erscheinung, daß die zahlreichen mit dem warmen Wasser nordwärts geführten Organismen in dem kalten Wasser massenhaft zugrunde gehen und nun ein reiches Nährmaterial für die Entwicklung einer sehr üppigen, neuen Flora darstellen, leuchtet ohne weiteres ein. Denn daß das arktische Wasser selbst tatsächlich viel weniger Keime enthält, bestätigen die Untersuchungen 3, 4 und 5, die dem vorwiegend von Eisschmelzwasser gebildeten isländischen Küstenstrom und dem grönländischen Eisstrom angehören und bei denen alle Nährmedien übereinstimmend in diesem Sinne sprechen. Eigene qualitative Untersuchungen konnten indes wegen Mangels an den notwendigen Hilfsmitteln nicht vorgenommen werden.

Das Gleiche geht aus den Untersuchungen hervor, die an der Nordwestküste von Spitzbergen in der Magdalenenbay, im Virgohafen und in der Möllerbay ausgeführt wurden. Das Wasser wurde hier (Versuch 8, 10 und 11) meist in den oft ziemlich weit ins Land einschneidenden Fjorden entnommen und unter völlig sterilen Bedingungen an solchen Stellen geschöpft, wo eine vorherige Verunreinigung vom Schiff her ausgeschlossen war. Lassen diese Versuche zunächst einmal den Schluß zu, daß das atlantische Wasser nicht bis in jene Fjorde eindringt, sondern daß es sich hier um unvermisches Küstenwasser handelt, welches seinen Ursprung hauptsächlich der Schnee- und Eisschmelze verdankt, so beweisen sie weiterhin, daß eine derartige Keimarmut, wie sie verschiedene Beobachter in den südlichen Polargebieten gesehen haben, in der Arktis jedenfalls nicht anzutreffen ist. Mit Rücksicht auf die bereits auf p. 460 kurz erwähnten Umstände darf diese Tatsache nicht verwunderlich erscheinen.

Bei den Untersuchungen 14—16, die zwischen den Schären der norwegischen Westküste stattfanden, sowie bei No. 17, wo das Wasser vor Balholmen, also sehr weit drinnen im Fjord verarbeitet wurde, ergaben sich ausnahmslos sehr hohe Keimzahlen, die eben auf Rechnung der vom Lande her zugeführten reichlichen Verunreinigungen zu setzen sind.

Von den meteorologischen Verhältnissen zur Zeit der Untersuchungen sind die Bewölkung und die Stärke des Seeganges in der Tabelle I berücksichtigt, ebenso finden sich dort Angaben über die Temperatur des Seewassers. Ein Vergleich dieser Beobachtungen mit den zugehörigen Keimzahlen läßt keinen Einfluß eines der 3 Faktoren erkennen.

## **2. Der Keimgehalt des Kaltwasserleitungswassers.**

Von besonderer Wichtigkeit schien es mir festzustellen, welchen Einfluß ein längerer Aufenthalt des Dampfers an einer Stelle auf die tieferen Schichten des umgebenden Wassers ausübt. Diese Frage hat nicht nur wissenschaftliches Interesse, sondern sie ist auch insofern von praktischem Wert, als das von der ständig in Betrieb befindlichen Schiffspumpe aus dem Meer gehobene Wasser für Reinigungs- und Kühlzwecke, vor allem aber als Badewasser Verwendung findet. Die Saugrohröffnung entspricht im allgemeinen etwa der tiefsten Stelle des Schiffes, sie lag beim „Großen

Kurfürsten“ 20 Fuß unter der Wasseroberfläche. Das hochgepumpte Wasser ist, auch wenn es nicht verbraucht wird, in fortwährendem Kreislauf und strömt, nachdem es das gesamte Röhrensystem passiert hat, wieder ins Meer zurück. Da auf diese Weise nirgends eine nennenswerte Ansammlung von Seewasser möglich ist, darf man mit Recht behaupten, daß das aus der Badeleitung entnommene Wasser, nachdem das Schiff nur ganz kurze Zeit an einer Stelle gelegen hat, tatsächlich das gleiche Wasser ist wie das des umgebenden Meeres, oder auch, daß beim fahrenden Schiff, sofern man zur Vorsicht durch vorheriges Oeffnen des Leitungshahnes das im letzten Abschnitt stehende Wasser hatte ablaufen lassen, das nunmehr abfließende Wasser der eben durchfahrenen, wenige hundert Meter zurückliegenden Strecke des Meeres entstammt.

Leider faßte ich den Entschluß zu diesen Untersuchungen erst ziemlich am Schluß der Reise, aber ich glaube nach meinen Beobachtungen behaupten zu dürfen, daß derartige, systematisch und in größerer Zahl durchgeführte, Arbeiten in mehrfacher Hinsicht recht interessante Ergebnisse zu liefern imstande wären. Ich kann leider nur über einige wenige Versuche berichten.

Angeregt wurden diese durch die Frage, ob es empfehlenswert sei, nachdem das Schiff in einem Fjord über Nacht vor Anker gelegen hat, am folgenden Morgen die Badeeinrichtung zu benutzen. In einem Hafen, wo das Wasser wohl ausnahmslos als hochgradig verunreinigt, zum mindesten als wenig appetitlich anzusehen ist, verbietet sich das Baden demgemäß von selbst und es wird kaum jemand ein besonderes Verlangen nach dem gewohnten Morgenbad äußern. Anders im Fjord! Hier läßt das durch seine Klarheit und ungewöhnlich prachtvolle Färbung ausgezeichnete Wasser direkt zum Baden ein.

Daß nun ein großer Dampfer mit 400 Passagieren und 200 Mann Besatzung, wenn er mehrere Stunden an einer Stelle liegt, mit den sehr großen Mengen von Abfallstoffen verschiedenster Art, die fortwährend ins Meer gelangen, dem umgebenden Wasser ungezählte Millionen, unter Umständen auch pathogener Mikroorganismen zuführt, liegt auf der Hand.

Wenn im offenen Meer, wo Ebbe und Flut sowie die durch den Wind verursachten Strömungen eine ständige Erneuerung des Wassers zur Folge haben, eine nennenswerte Ansammlung von Verunreinigungen, die dem — verankerten — Schiff entstammen, nicht zu befürchten ist, so fallen diese Momente nahezu völlig fort in den tief eingeschnittenen engen Fjorden der norwegischen Westküste, in deren innersten Buchten Ebbe und Flut sich häufig nur noch durch Unterschiede von wenigen Dezimetern kennzeichnen.

Hier ist also sehr wohl die Frage berechtigt und von praktischer Bedeutung, ob die vom Schiff aus ins Meer gelangenden Keime in dem der Kaltwasserleitung entnommenen und aus einer Tiefe von 7 m stammenden Wasser nachgewiesen werden können.

Bei den mir zur Verfügung stehenden beschränkten Hilfsmitteln war es mir natürlich nicht möglich, in dieser Hinsicht qualitative Untersuchungen vorzunehmen. Ich mußte mich damit begnügen, bei Ankunft, nach längerem Aufenthalt an einer Stelle und nach der Abfahrt die Keimzahlen festzustellen und aus den Schwankungen der gefundenen Zahlen Rückschlüsse auf etwa durch das Schiff bedingte Verunreinigungen zu machen. Die in dieser Richtung ausgeführten

Untersuchungen wurden ausschließlich im Sognefjord vorgenommen. Sie sind in Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.

Entnahmestelle	Gewöhnliche Gelatine	Fischgelatine	Ragit
Vangsnaes	—	—	220
Vangsnaes, nach 4-stündigem Aufenthalt	—	—	330
Gudvangen, bei der Ankunft	—	—	78
Gudvangen, nach 24-stündigem Aufenthalt	424	330	322
Gudvangen, 10 Min. nach der Abfahrt	110	164	94
Balholmen, nach 4-stündigem Aufenthalt	—	—	132
Balholmen, 15 Min. nach der Abfahrt	—	—	59

Wie aus den Befunden von Vangsnaes hervorgeht, genügte ein Aufenthalt von 4 Stunden, und zwar während des Nachmittags, wo die dem Meere zugeführten Abfallstoffe sicher sehr viel weniger reichlich sind als z. B. in den frühen Morgenstunden, um ein Ansteigen der Keimzahl um 50 Proz. zu bewirken.

Erheblich größer waren die Unterschiede vor Gudvangen, wo größere Zeitabschnitte zwischen den einzelnen Untersuchungen lagen. Bei der Ankunft wurden 78 Keime in 1 ccm Wasser der kalten Badeleitung gefunden, nach 24 Stunden waren es deren 322 und 10 Minuten nach der Abfahrt 94. Auch die Paralleluntersuchungen mit Fischgelatine und mit gewöhnlicher Gelatine geben, soweit sie ausgeführt wurden, diese Unterschiede unzweideutig wieder.

Wenn auch dem Parallelversuch zwischen gewöhnlicher Gelatine und Fischgelatine in einem einzelnen Fall nur beschränkte Beweiskraft beizumessen ist, so könnte man dennoch geneigt sein, aus dem Umstand, daß nach 24-stündigem Aufenthalt vor Gudvangen auf gewöhnlicher Gelatine etwa 25 Proz. mehr Keime wuchsen als auf Fischgelatine und daß andererseits 10 Minuten nach der Abfahrt die auf Fischgelatine entwickelten Keime um ungefähr die Hälfte in der Ueberszahl waren gegenüber der gewöhnlichen Gelatine, eine weitere Bestätigung dafür abzuleiten, daß im ersteren Fall zahlreiche dem Schiff entstammende Bakterien in der gewöhnlichen Nährgelatine bessere Bedingungen antrafen als in der Fischgelatine, während die nach der Abfahrt gefundenen, als dem Meerwasser zugehörig anzusehenden Bakterien, in der Fischgelatine bessere Bedingungen fanden.

Die vor Balholmen mit einem Zeitabstand von 4 Stunden erhobenen Befunde schließen sich denen von Vangsnaes und Gudvangen in bester Uebereinstimmung an.

Wie schon betont, bedauere ich, in dieser Richtung nicht noch mehr Versuche auch nach anderen Gesichtspunkten hin ausgeführt zu haben; aus der Tabelle III dürfte aber zur Genüge hervorgehen, daß auch in den tieferen Schichten des Wassers in der Umgebung eines Schiffes nach längerem Aufenthalt eine ziemlich beträchtliche Vermehrung der Keime zu beobachten ist,

eine Tatsache, die nur in Verbindung mit den vom Schiff stammenden Verunreinigungen zu bringen ist. Ob allerdings die zunehmende Keimzahl einzig und allein auf die vom Schiff ausgestreuten Bakterien unmittelbar zurückgeführt werden muß, oder ob der gleichzeitig bedeutend erhöhte Gehalt des Wassers an Nährmaterial eine Vermehrung der bereits vorhandenen, harmlosen Wasserflora zur Folge hatte, konnte durch diese Versuche nicht mit Sicherheit entschieden werden. Es dürfte jedoch von Interesse und Wichtigkeit sein, durch qualitative Methoden diese Frage zu klären!

### 3. Morphologische und biologische Eigenschaften der aus dem Meerwasser gezüchteten Keime.

Untersuchungen, die die Form der aus dem Meerwasser isolierten Bakterien ermitteln sollten, wurden bereits auf dem Schiff in der Weise vorgenommen, daß von einer Reihe der gewachsenen Kolonien Färbepreparate angefertigt wurden. Unter 16 derartigen Ausstrichpräparaten, die von den Kulturplatten der Stationen 1, 3, 6 und 16 stammten, fanden sich 5mal Bacillen (einmal grampositive, sonst negative), 2mal grampositive hefeähnliche Sproßpilze, einmal gramnegative, zu langen Fäden und Schlingen ausgewachsene Gebilde, 4mal Kokken (ein Stamm grampositive) und 4mal gramnegative Diplokokken.

Weiter wurden von einer Anzahl von Kolonien Stichkulturen angelegt, deren eingehende Prüfung später im Laboratorium ausgeführt werden sollte. Leider gelang es nur bei 6 dieser Kulturen, sie unverseht mit nach Hause zu bringen, während eine Anzahl anderer durch Glasbruch bereits auf dem Schiff verloren ging. Die untersuchten 6 Stämme sind aus Wasserproben der Stationen 3 (Tab. IV No. 1 u. 2), 6 (Tab. IV No. 3 u. 4) und 10 (Tab. IV No. 5 u. 6) gezüchtet. Die Ergebnisse der Prüfung gehen aus Tabelle IV hervor.

Kurz zusammengefaßt handelt es sich also bei diesen 6 Stämmen um verschieden gestaltete Bacillen, die zum Teil (4 u. 6) wohl als Vibrionen anzusehen sind. Sie sind sämtlich gramnegativ, bilden keine Sporen und sind, außer No. 5, durch sehr lebhafte Eigenbewegung ausgezeichnet. Gelatine wurde, abgesehen von No. 1, mehr oder minder stark verflüssigt. Die Züchtung gelang auf gewöhnlichen Nährsubstraten, jedoch ließen üppigeres Wachstum und andere charakteristische biologische Erscheinungen (bessere Farbstoffbildung, stärkere Gelatineverflüssigung) erkennen, daß die mit Fischbouillon und 3 Proz. Seesalz-zusatz bereiteten Medien den Anforderungen der halophilen Keime besser gerecht wurden. Auf den Bouillonkulturen war teilweise Häutchenbildung vorhanden, teils fehlte sie bei gleichmäßiger Trübung; oder die Bouillon blieb klar und zeigte einen Bodensatz, der beim Umschütteln zopfartig in die Höhe gewirbelt wurde. Das Wachstum bei 37° C war in allen Fällen schlechter als im Eisschrank, ging aber hier vielfach wieder langsamer vor sich als bei Zimmertemperatur. Die Prüfung auf Denitrifikation wurde gemäß der von Gräff gegebenen Vorschrift ausgeführt<sup>1)</sup>. Kultur 1 und 2 bauten die Nitrate ab, den übrigen Stämmen

- 1) 100 ccm Seewasser
- 200 „ Nährstoff Heyden
- 2,0 „ Calciumnitrat
- 1,0 „ Magnesiumsulfat
- 1,0 „ Monokaliumphosphat.

Zum Gebrauch mit der 19-fachen Menge Wasser zu verdünnen. Nachweis mit Jodkali-stärke-lösung nach vorheriger Ansäuerung mit reiner Salzsäure.

Tabelle IV.

No.	Morphologisch	Gram	Sporen ?	beweglich ?	Wird Milch koaguliert ?	Wachstum bei Zimmertemperatur auf					Wachstum bei 37° C auf Fischagar	Wachstum im Eis-schrank auf Fischagar	Denitrifikation ?
						Fischgelatine	Gewöhnliche Gelatine	Fischagar (schräg)	Gewöhnl. Agar (schräg)	Bouillon			
1	sehr kurzes, zartes Stäbchen	negativ	keine	sehr lebhaft	nein	gut, keine Verflüssigung	gut, keine Verflüssigung	üppig, weiß	üppig, weiß	gleichmäßig getrübt	mäßig	gut	ja
2	kurzes Doppelpelstäbchen	negativ	keine	sehr lebhaft	nein	gut, Verflüssigung längs des ganzen Stichkanals	gut, Verflüssigung längs des ganzen Stichkanals	üppig, saftig-weiß	mäßig, sehr trocken	Häutchen, gleichmäßig getrübt	mäßig, sehr trocken	gut	ja
3	kurzes, plum-pes Stäbchen, Neigung zu Fadenbildung	negativ	keine	sehr lebhaft	ja	gut, Verflüssigung parallel zur Oberfläche	gut, Verflüssigung abwärts parallel z. Oberfläche	üppig, weiß	mäßig, weiß	Häutchen, gleichmäßig getrübt	mäßig	gut	nein
4	langes, leicht gekrümmtes Stäbchen (Vibrio)	negativ	keine	sehr lebhaft	ja	gut, Verflüssigung parallel zur Oberfläche, starke Fluoreszenz	wie links, Fluoreszenz jedoch weniger ausgesprochen	sehr üppig, saftig, starke Fluoreszenz	üppig, grünliche Färbung	Haut, leichte gleichmäßige Trübung, Fluoreszenz	kein Wachstum	gut	nein
5	sehr kurzes Doppelpelstäbchen	negativ	keine	wenig beweglich	nein	gut, langsame Verflüssigung parallel zur Oberfläche	wie links	üppig, leicht rosa	spärlich, weiß	Bouillon klar, Bodensatz, Zopf	kein Wachstum	dürrig	nein
6	sehr zartes Stäbchen, leicht gekrümmt	negativ	keine	äußerst lebhaft	nein	gut, stark verflüssigt entlang dem ganzen Stichkanal	gut, geringe Verflüssigung	üppig, leicht rosa	spärlich, weiß	Bouillon klar, Bodensatz, Zopf	kein Wachstum	dürrig	nein

fehlte diese Eigenschaft. Untersuchungen auf Nitrifikation konnten wegen Mangels an geeigneten Nährmedien an Bord nicht ausgeführt werden.

#### 4. Untersuchungen des Darminhaltes einiger arktischer Vögel.

Die leider nur zu bekannte und nicht scharf genug zu verurteilende Tatsache, daß durch die Reisenden, denen es vergönnt ist, mühelos bis in jene herrenlosen Gletscherlande vorzudringen, in welchen bisher keine gesetzliche Vorschrift der Fauna irgendwelchen Schutz zuteil werden läßt, ein jedes erreichbare Lebewesen zwecklos abgeschossen wird, konnte bedauerlicherweise auch auf unserer Polarfahrt beobachtet werden.

Ich hielt es daher für geboten, um durch mein Beispiel möglichst nicht noch mehr der an Bord reichlich vorhandenen Schießwerkzeuge in Tätigkeit zu setzen, den Bedarf an Versuchstieren auf ein Mindestmaß einzuschränken, zumal die für die Verarbeitung zur Verfügung stehende Zeit infolge zahlreicher anderer Abhaltungen ziemlich knapp bemessen war.

Ich begnügte mich aus diesen Gründen mit einer Lumme, einer Eiderente und zwei Schnepfen, die in der Magdalenenbay und in der Möllerbay an der Nordwestküste von Spitzbergen erlegt wurden. Die reichlich vorhandenen Möven und die Seeschwalben hielt ich deswegen für diese Versuche nicht für geeignet, weil sie fortwährend in großer Zahl das Schiff umkreisten und dort reichliche Nahrung fanden. Es wäre daher kaum anzunehmen gewesen, selbst in relativ großer Entfernung vom Schiff einen dieser weitfliegenden Vögel zu erhalten, bei dem man ausschließen konnte, daß er vorher bereits seinem Darmkanal mit den Schiffsabfällen eine aus diesen stammende Bakterienflora zugeführt hätte. Bei den oben genannten 4 Vögeln konnte ich diese zu Falschschlüssen führende Gefahr ausschalten.

Sie wurden bald nachdem sie geschossen waren (nach etwa 2 Stunden) sezirt, der Darm in toto unter sterilen Bedingungen herausgenommen und im Bereich des Dickdarms und des Dünndarms steril geöffnet. Mit ausgeglühter Platinöse wurde aus beiden Öffnungen Darminhalt, an Menge der Größe eines Hanfkorns entsprechend, entnommen und auf Drigalski-, Agar- und Fischagarplatten ausgestrichen. Diese wurden zunächst bei 35° 24 bis 48 Stunden bebrütet, dann außerdem bei Zimmertemperatur noch mehrere Tage beobachtet.

Das Ergebnis war, daß die mit dem Darminhalt der Lumme, der Ente und einer Schnepfe beimpften Platten sämtlich steril blieben. Bei den mit dem Darminhalt der zweiten Schnepfe beschickten Kulturplatten waren aus der Dünndarmprobe auf Fischagar und gewöhnlichem Agar vereinzelte, sehr feine, durchsichtige und leicht opaleszierende Kolonien gewachsen; die Drigalski-Platten blieben steril. Die mit dem Dickdarminhalt beimpften Platten zeigten nach 30-stündiger Bebrütung bei 35° zahlreiche Kolonien der gleichen Art, wie sie auf den Agarplatten des Dünndarminhaltes gewachsen waren, und zwar auf allen drei Nährmedien. Die auf Drigalski-Agar entwickelten Kolonien ließen den Agar blau.

Es gelang mir, den Stamm in Reinkultur lebend zu erhalten und im Laboratorium einer genauen Prüfung zu unterziehen. Es ergaben sich dabei folgende Eigenschaften: ganz kurzes, fast kokkenartiges Doppelstäbchen, grampositiv, keine Sporen, lebhaft be-



weglich. Wachstum weitaus am besten unter anaëroben Bedingungen. Gelatine wird nicht verflüssigt.

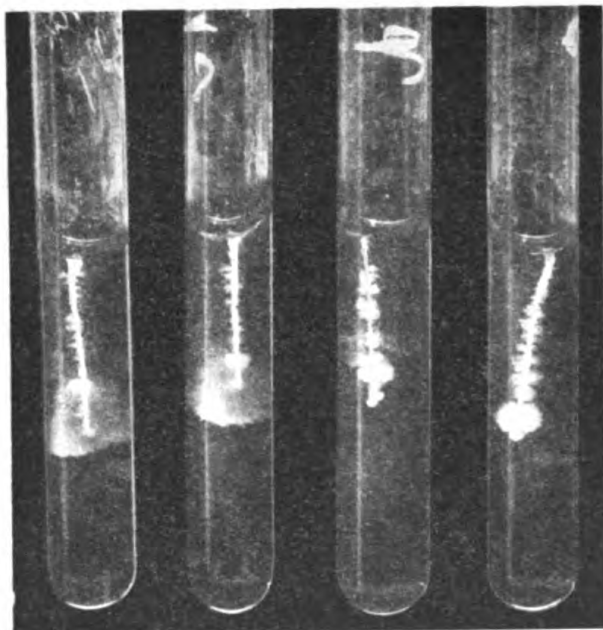


Fig. 2.

Nährböden, die mit Fischbouillon und 3 Proz. Seesalzzusatz hergestellt wurden, sind entschieden bevorzugt. Bouillon wird leicht getrübt, zeigt aber einen Bodensatz, der sich zopfartig aufwirbeln läßt. Wachstum bei 37° entschieden besser als bei niedrigeren Temperaturen. Keine Denitrifikation. Nicht pathogen für Meerschweinchen und Maus. Wegen des außerordentlich schönen, die Vorliebe für anaërobe Verhältnisse veranschaulichenden Wachstums der Gelatinestickkulturen hielt ich es für angebracht, die Photographie dieser 3 Wochen alten Kulturen beizufügen (Fig. 2).

### 5. Die Zählung der Luftkeime.

Die bakteriologische Untersuchung der Luft war in der Weise beabsichtigt gewesen, daß an einer Stelle, die vor Staub und sonstigen Verunreinigungen vom Schiff her völlig sicher ist, Agarplatten längere Zeit offen aufgestellt werden sollten.

Was auf einem Expeditionsschiff nur mit Mühe zu erreichen ist, macht natürlich auf einem großen Dampfer mit 600 Personen an Bord erst recht viel Schwierigkeiten, nämlich, einen Ort ausfindig zu machen, der den oben genannten Anforderungen entsprach. Auch die auf dem vorderen Mast befindliche obere Tonne konnte als ein Ort für ständige Untersuchungen nicht verwendet werden, da sie in den Gebieten, in denen Treibeis angetroffen wurde oder zu erwarten war, ständig mit einer Offizierswache besetzt war. Als den noch am besten geeigneten Platz erkannte ich schließlich das Dach der Kommandobrücke, und mit der mir lebenswürdigerweise vom Kapitän erteilten Erlaubnis war es mir möglich, die Platten dort oben aufzustellen.

Es zeigte sich denn auch, daß, wenn der Wind nicht zu stark war und von vorn oder spitz von vorn stand, brauchbare Ergebnisse erzielt wurden. Starker Wind jedoch, wie er mehrfach zu verzeichnen war, lieferte stets eine vermehrte Koloniezahl, insbesondere zahlreiche Schimmelkulturen.

Alles in allem konnte ich aber bestätigen, daß der Keimgehalt der Luft über dem Meer außerordentlich gering ist. Von 16 diesbezüglichen Untersuchungen, bei denen die Platten 1 bis 5 Stunden offen an der bezeichneten Stelle gestanden hatten, waren 5mal (Stationen 2, 4, 5, 6, 16) die Platten überhaupt nicht infiziert, 4mal entwickelten sich bis zu 3 Kolonien (Stationen 3, 7, 9, 15). Daß gerade an der Packeisgrenze nach 1½-stündigem Offenstehen zwei

entwicklungsfähige Keime auf die Platten gefallen waren, glaube ich wohl mit Recht darauf zurückführen zu dürfen, daß an diesem Tage wegen vielfacher Sehenswürdigkeiten das hinter der Kommandobrücke gelegene Sonnendeck von besonders vielen Fahrgästen aufgesucht wurde und daß diese dafür verantwortlich zu machen sind, daß die Luft mit zahlreichen Bakterien beladen wurde.

Eine ziemlich beträchtliche Zahl von Schimmelkolonien wurde beobachtet bei den Stationen 12 (starker Nebel), 13 (Windstärke 8), 14 und 15 (in beiden Fällen zeitweise Sprühregen). Da bei den übrigen Untersuchungen gerade Schimmelkolonien ziemlich selten und nur in ganz geringer Zahl zu bemerken waren, glaube ich, die bei den genannten 4 Stationen gefundenen zahlreichen Schimmelpilze mit Recht in Zusammenhang mit den meteorologischen Verhältnissen (Nebel, Regen) bringen zu dürfen, eine Annahme, die auch durch frühere Beobachtungen (Fischer, Flemming, Hahn) gestützt wird.

Recht interessant war mir eine Luftuntersuchung in meinem Arbeitsraum im Zwischendeck; 2 Agarplatten wurden 10 Minuten offen aufgestellt und dann mehrere Tage beobachtet: die eine blieb überhaupt steril und auf der anderen entwickelten sich 2 Kolonien. Ich darf daraus schließen, daß bei meinen Arbeiten, die infolge der ursprünglichen Befürchtung, die Luft sei mit Keimen und Sporen geschwängert, unter Berücksichtigung peinlichster Vorsichtsmaßnahmen ausgeführt wurden, die Gefahr der unbeabsichtigten Luftinfektion sicher keine Rolle gespielt hat.

Insbesondere hatte ich in meinem Laboratorium absolut nicht, wie dies von mehreren Forschern, die auf einem Schiff bakteriologisch gearbeitet haben, berichtet wird, unter einer Beeinträchtigung der Kulturen oder gar der unbeimpften Nährmedien durch Schimmel zu leiden.

## 6. Schluß.

Wenn die Ergebnisse meiner Untersuchungen infolge ihrer beschränkten Zahl und der Unzulänglichkeit der Hilfsmittel selbstverständlich nicht beanspruchen dürfen, ihren Platz neben den bakteriologischen Berichten wissenschaftlicher Forschungsreisen einzunehmen, so dürften sie dennoch, zumal sie sich auf die überhaupt weniger bekannten arktischen Verhältnisse beziehen, einiges Interesse verdienen.

Gerade der Umstand, daß die von mir im Meerwasser ermittelten Keimzahlen zum Teil in erheblichem Gegensatz stehen zu denen, die für die südlichen Polargegenden gefunden wurden, lassen mir meine Beobachtungen besonders beachtenswert erscheinen.

Ich habe bereits eingangs darauf hingewiesen, daß zwischen den arktischen und den antarktischen Meeren grundsätzliche Verschiedenheiten schwerwiegendster Art bestehen, und habe betont, daß es merkwürdig ist, wenn trotzdem für beide Meere bezüglich des Bakteriengehaltes derartige Uebereinstimmungen bestehen sollten, wie sie aus dem Bericht von Levin abgeleitet werden müssen.

Das nördliche Eismeer bezieht ungeheuerere Wassermengen, die selbst an der Oberfläche bis über den 80. Breitengrad hinaus nachweisbar sind, aus dem atlantischen Ozean, es ist, wie Supan treffend sagt, hydrographisch eine Dependanz des atlantischen Ozeans.

Mit dem atlantischen Wasser wird aber nicht nur eine ungeheuerere Wärmemenge, die ein reiches Leben zu unterhalten imstande ist, dem Norden zugeführt, sondern es gelangen mit ihm auch große Mengen

lebender und toter Organismen, letztere bedeutungsvoll als reichliches Nährmaterial für neues Leben, in die arktischen Breiten. Es werden endlich durch vielfaches Zusammentreffen kalter und warmer Strömungen die nach Fischer und Gräf für einen großen Keimreichtum so außerordentlich günstigen Bedingungen in reichstem Maße geschaffen.

Ganz anders in der Antarktis! Strömungen, die warmes Wasser in die polaren Gegenden vorschieben und die auch nur entfernt mit der atlantischen verglichen werden könnten, fehlen völlig. Die Isothermen des Wassers bewegen sich daher, ganz im Gegensatz zu den Verhältnissen im Norden, nahezu parallel den Breitengraden und sinken bereits unter dem 50. Breitengrad auf Werte hinab, wie sie beispielsweise erst an der Südspitze von Spitzbergen, also etwa unter dem 77. Grad nördlicher Breite erreicht werden. Die Vereisung ist in der Antarktis ungleich gewaltiger als in der Arktis. Hat doch die südliche Treibeisgrenze im Mittel eine Länge von wenigstens 23 000 km, d. h. von nahezu drei Fünfteln der Länge des Aequators! Während nach der Annahme von Pettersson die nordische Treibeiskante nur 10 m tief in das Wasser eintaucht, ist der entsprechende Wert für die südlichen Verhältnisse auf 400 m zu veranschlagen! Daß diese riesigen Dimensionen vollkommen andere Bedingungen schaffen, daß Wärmeausgleich und Schmelzprozeß unter ganz anderen Erscheinungen verlaufen müssen wie im Norden, liegt auf der Hand.

Sollten unter diesen Umständen bezüglich des organischen Lebens in der Arktis und Antarktis wirklich die gleichen Befunde zu erwarten sein?

Ekelöf hat bereits der Meinung Ausdruck gegeben, daß in der Arktis die klimatischen Bedingungen, die dort ansässigen Säugetiere und der Import aus wärmeren Gegenden einem größeren Bakterienreichtum ungleich günstiger sind als in der Antarktis. Weiterhin, schreibt Ekelöf, sei anzunehmen, daß infolge intensiverer Sonnenbestrahlung und Erwärmung in der Polnähe noch mehr Bakterien zu erwarten sind als in den Breiten, wo er seine Untersuchungen ausgeführt hat ( $64^{\circ} 22'$ ).

Wenn man mit diesen Folgerungen Ekelöfs die Befunde Levins vergleicht, so ergeben sich lebhaft Widersprüche.

Leider ist aus den Mitteilungen Levins nicht mit Bestimmtheit die Zeit zu entnehmen, in der er seine Untersuchungen ausgeführt hat. Denn daß die jeweiligen klimatischen Verhältnisse eine entscheidende Rolle in der Entwicklung der polaren Bakterienflora spielen, haben die von Ekelöf mit großer Genauigkeit vorgenommenen Bodenuntersuchungen zur Genüge bewiesen. Da ferner die Eisverhältnisse und die Meeresströmungen, deren grundlegender Einfluß auf das organische Leben im Meere feststeht, selbst innerhalb kurzer Zeiträume außerordentlichen Verschiebungen unterliegen, so sind sehr große Schwankungen im Bakteriengehalt des Wassers nicht nur in den verschiedenen Jahreszeiten, sondern sogar in den einzelnen Monaten zu erwarten. Wenn Levin seinen Angaben die genauen Daten der einzelnen Untersuchungen beigefügt hätte, so würden sich vielleicht die Widersprüche, die zwischen seinen Angaben einerseits, den Ausführungen Ekelöfs und meinen Befunden andererseits bestehen, klären lassen.

Sicher ist jedenfalls, daß meine Befunde den theoretischen Erörterungen Ekelöfs durchaus entsprechen und daß sie mit den Ansichten anderer Forscher, die sich mit der Bakteriologie des Meerwassers beschäftigt haben, vor allem aber mit den Grundsätzen der allgemeinen Hydrographie, vollkommen in Einklang zu bringen sind.

Die feineren Vorgänge, welche für die Strömungen und Gegenströmungen in den Ozeanen maßgebend sind, die Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Schichtungen kalten und warmen, salzreichen und salzärmeren Wassers, die quantitativen Verhältnisse des hierauf beruhenden Untersinkens und Aufsteigens, das Schicksal der vom Schmelzprozeß herrührenden, äquatorialwärts ziehenden Oberflächenströmungen, sind trotz eingehenden Studiums noch nicht in allen ihren Einzelheiten bekannt.

Wenn für die Klärung dieser Fragen bereits mit gutem Erfolg die Planktonforschung herangezogen worden ist, so dürften vielleicht in dieser Hinsicht die bakteriologischen Verhältnisse einen noch feineren Indikator darstellen, ein Umstand, der den vorstehenden Ausführungen auch das Interesse der Hydrographen sichern dürfte!

# Literaturverzeichnis.

- Albert I<sup>r</sup>, Prince de Monaco, Sur la troisième campagne de la Princesse Alice II. (Extr. des Compt. rend. des séances de l'Acad. d. scienc. T. 134. 1902. p. 961.)
- Brandt, K., Ueber die Bedeutung der Stickstoffverbindungen für die Produktion im Meere. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 25. 1907. H. 1.)
- Ekelöf, E., Bakteriologische Studien. (Wissenschaftl. Ergebn. d. schwed. Südpolar-Exp. 1901—1903. Stockholm 1908.)
- , Studien über den Bakteriengehalt der Luft und des Erdbodens der antarktischen Gegenden, . . . . (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. p. 344.)
- Expédition antarctique française, 1903—1905. Paris 1908.
- Fischer, B., Die Bakterien des Meeres nach den Untersuchungen der Plankton-Expedition . . . . (Ergebn. d. Plankton-Exped. d. Humboldtstift. Bd. 4. Leipzig u. Kiel (Lipsius u. Tischer) 1894.)
- , Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 421.
- , ebenda. Bd. 23. 1896. p. 1.
- Flemming, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. 1908. p. 345.
- Galli-Valerio, Recherches sur les germes de l'air à la montagne. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. p. 497.)
- Gazert, H., Bakteriologischer Bericht. (Aus d. Berichten üb. d. wissenschaftl. Arbeiten d. deutsch. Südpolar-Exped. a. d. Schiff „Gauss“ . . . 1902/03; Veröffentl. d. Inst. f. Meeresk. u. d. geogr. Inst. a. d. Univ. Berlin. 1903. H. 5.)
- , Verhandl. d. 15. deutsch. Geographentages zu Danzig. 1905.
- De Giæxa, Ueber das Verhalten einiger pathogener Mikroorganismen im Meerwasser. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. p. 172.)
- Gräf, Forschungsreise S. M. S. Planet 1906/07. Herausgeg. v. Reichsmarineamt. Bd. 4 (Biologie). Berlin 1909.
- Hahn, M., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. p. 97.
- Küster, E., Dtsch. med. Wochenschr. 1913. p. 1586.
- Levin, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 13. 1899. p. 558.
- Lohmann, H., Untersuchungen über das Pflanzen- und Tierleben der Hochsee. (Veröffentl. d. Inst. f. Meeresk. a. d. Univ. Berlin. N. F. 1912. H. 1.)
- Minervini, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900. p. 165.
- Nansen, Fram over polar nafvet. 1897. p. 563.
- Nyström, Om täsnings och forruttelseprocesserna på Spetsbergen. Upsala 1868.
- Otto u. Neumann, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 13. 1904. p. 481.
- Pettersson, O., Ueber Meeresströmungen. (Veröffentl. d. Inst. f. Meeresk. a. d. Univ. Berlin. 1908. H. 12.)
- Pirie, Report on the Scientific Results of the Scottish National Antarctic Expedition. Edinburgh 1912.
- Russell, H. L., Untersuchungen über im Golf von Neapel lebende Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. p. 165.)
- Stutzer, A., u. Maul, R., Ueber Nitrat zerstörende Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. 1896.)
- Supan, A., Grundzüge der physischen Erdkunde. 3. Aufl. Leipzig (Veit u. Co.) 1903.
- Thomsen, P., Ueber das Vorkommen von Nitrobakterien im Meere. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. 25. 1907. H. 1.)

*Nachdruck verboten.*

## Capsule-formation by the bacteria of haemorrhagic septicaemia<sup>1)</sup>.

By Phillip B. Hadley, Ruth Bryant and Marguerite Elkins.

It cannot be doubted that there is, in general, a correlation between the viscosity of bacterial cultures and the possession of capsules by the individual organisms. This has commonly proved to be the case and there are at present very few well-known bacterial species possessing viscosity, in which capsule-formation has not been demonstrated. In fact it is now commonly stated in text-books on bacteriology that the viscous condition of cultures is invariably due to the presence of capsules.

One apparent exception to this rule are the bacteria now commonly known as the "bacteria of haemorrhagic septicaemia", including many sub-species such as *Bact. avisepcticus*, *Bact. suisepcticus*, *Bact. canisepcticus*, *Bact. cuniculicida*, *Bact. mustelae septicus*, and others, the differentiation of which rests upon none too certain grounds. The bacteria belonging to this large group (*Bact. bipolaris septicus*) have long been known to manifest, at times, a definite viscosity which is usually more characteristic of older cultures. Cultures on slant agar, twelve to twenty-four hours old, frequently do not show this character, but cultures that have been growing for several days may often be drawn out into threads several centimeters in length. Notwithstanding the fully admitted possession of this characteristic, however, all attempts to demonstrate the presence of capsules in these bacteria have, until recently<sup>2)</sup> failed; and it has often been concluded that the viscosity characteristic of the bacteria of haemorrhagic septicaemia was due to some other characteristic than the possession of capsules.

Recently, however, Gozony<sup>3)</sup> has presented the details of a method by which it is alleged the capsules have been demonstrated in several sub-species of the haemorrhagic septicaemia group. The details of the method reported by Gozony are as follows:

A small drop of India ink is placed upon a well-cleaned slide. To this a small amount of culture of the bacteria to be examined is added and thoroughly mixed with the drop of ink. A cover-glass is laid over the mixture and pressed down with filter paper several times folded. The microscopical examination is made with narrow diaphragm and low lighting.

By employing this method, Gozony states that he has observed capsules in all of the cultures of the bacteria of haemorrhagic septicaemia examined by him. His photographic illustrations depict them as possessing broad capsules, sometimes two or three times as wide as the bacterium itself. The organisms examined were from agar cultures, or from the blood or inoculation-site of infected animals; and all showed capsules. Gozony states further that, after growing the bacteria for one hundred generations at 44.5° C, both virulence and ability to form capsules was still maintained. It was thus indicated that propagation at high temperatures

1) Contribut. No. 201 from the Agricult. Experm. Stat. of the Rhode Island State College, Kingston, R. I., U. S. A.

2) Vide infra.

3) Gozony, Ludwig, Kapselbildung bei den Bakterien der Septicaemia haemorrhagica. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. p. 594—596.)

did not prevent capsule-formation. It is suggested that this method of demonstrating capsules in the bacteria of haemorrhagic septicaemia may be a valuable means of diagnosis of diseases belonging to this group.

For several years one of the present writers has been studying, in considerable detail, the chief biological and cultural features of the bacterium of fowl cholera, one of the haemorrhagic septicaemia group. During this time cultures have been carefully studied and in no case was the formation of capsules observed when the customary methods devised for the demonstration of capsules were employed. The India ink method reported by Gozony was naturally welcomed as one which might yield interesting results when applied to the group of fowl cholera cultures maintained in the laboratory collection. The method has now been tried and with the results reported below.

The first bottle of India ink used was an old bottle of Higgin's which had been open for several months and had been kept in a laboratory desk. As a precautionary measure a sample of this ink was examined microscopically before any of the fowl cholera bacteria were mixed with it. It appeared that organisms of several sorts were present in the ink in small numbers. The majority of the varieties were long or short rods in single elements or in chains and frequently motile. None of these were apparently capsulated. In addition to the rods, however, and comprising by far the majority of all microorganisms discoverable in the ink, there were present short ovoid bacteria possessing a definite capsule. These, as has been said, were the most common type of organism found in the ink, and, by their appearance, could not be differentiated from Gozony's capsulated bacteria as these have been depicted in the photographs accompanying his article. The bacteria themselves varied in length between 3 and 5  $\mu$ ; and in breadth between 2 and 3.5  $\mu$ . The breadth of the organisms, including the capsules, was about three times the breadth of the organism without the capsule, thus making the actual thickness of the capsule about equal to the breadth of the bacterium. The bacteria appeared either singly or in chains of two or three elements. Frequently, from three to ten organisms were irregularly massed together, indicating adhesion by means of the capsules. In other clumps it appeared as if the same capsule included several organisms possessing no regular arrangement, but lying close together.

After making these observations on the "normal flora" of India ink, preparations were made in which small amounts of culture (agar) of certain strains of the fowl cholera bacteria were added to the same ink. Although, upon the first examination of these slides, the capsulated bacteria appeared distinctly and in numbers (average of three to ten per field), and the rods were evident, the fowl cholera bacteria were not observed. After several fields had been examined with utmost care, they appeared in ones and twos, but seldom remained in clear vision for more than an instant. They apparently moved in and out of focus in a relatively wide space between slide and cover-glass. In the meantime the larger capsulated organisms and most of the rods maintained an approximately unchanging focus. In these preparations, although the capsules of the larger forms of ink-bacteria could be seen with remarkable distinctness, it was impossible to decide definitely whether capsules were present in the fowl cholera organisms. After most careful scrutiny under various conditions of illumination, nothing that in the least

resembled them could be distinguished; and the only point of doubt lay in the fact that the small size of the cholera organisms and their shifting position among the ink granules prevented clear definition.

In view of this circumstance, other preparations were made in which the cover-glass was pressed more closely to the slide. This naturally resulted in a thinner film of ink, in which the fowl cholera bacteria were much more easily observed. No longer did they advance and recede from the focal plane but appeared permanently in view. Among 17 cultures examined in this manner, all of which were known by complete cultural tests and by animal inoculations to belong to the fowl cholera group, not one was found that gave the faintest suggestion of capsule-formation. In the same preparation the capsules on the capsulated ink-bacteria and on the other capsulated organisms that were added to the mixture showed plainly, but not so well as in the preparations in which a thicker film of ink was employed.

These observations were repeated and agar cultures of various ages were employed. Whether the growth was young or old, viscid or non-viscid, the results were invariably the same: No capsules, or any structure that in the least resembled them, were apparent in any of the preparations. At the same time a beautiful demonstration was obtained of the capsulated ink-bacteria and of all other capsulated organisms which were added to the ink for control purposes.

After making the observations reported above, other bottles of India ink were examined microscopically. Of 18 bottles examined, 15 had been for some time open and 3 were newly-purchased. In all, bacteria were present. Of the opened bottles, 13 contained capsulated organisms together with rods of various lengths. Of the fresh bottles, 2 contained capsulated organisms but all contained non-capsulated rods. From these observations it can be concluded that the bacteria of fowl cholera do not possess capsules that can be demonstrated by the India ink method.

In view of these results, it can scarcely be doubted that the bacteria seen and described by Gozony were not bacteria of haemorrhagic septicaemia. This view is given further support from the following circumstance. In Gozony's Fig. 2, the legend reads: "Bact. avi-septicus im Herzblute einer infizierten Taube (in Tusche untersucht)". Gozony's Fig. 1 bears the legend: "Bact. avisepticus aus einer 24-stündigen Agarkultur (in Tusche untersucht)". Since it is Fig. 1, rather than Fig. 2, that includes red blood cells, it seems probably that Fig. 1, represents the bacteria from pigeon's blood, while Fig. 2 shows them from agar culture. Gozony does not state the size of the capsulated bacteria which he assumes to be *Bact. avisepticus*, but the approximate size may be calculated from his Fig. 1. Here the largest of the capsulated organisms have about one-fourth the length of the red blood cells shown in the same photograph. Assuming that the average length of the red cells from the pigeon is  $14\ \mu$ , the capsulated bacteria depicted would therefore have a length of about  $3.5\ \mu$ . Of about 20 pure cultures of the fowl cholera bacterium examined by the writers, none contained organisms more than  $0.8\ \mu$  in length, many were  $0.5\ \mu$  and a few  $0.4\ \mu$ . The average length was about  $0.6\ \mu$ . It thus seems fairly safe to assume that any bacterium whose length approximates  $3.5\ \mu$ , and which, in addition, shows the presence of broad capsules, must find a place outside the micro-organisms belonging to the haemorrhagic-septicaemia group.



*Nachdruck verboten.*

## Gesunde Kokkenträger während einer Meningitisepidemie.

[Aus dem bakt. Laboratorium der Gesundheitskommission  
in Kristiania.]

Von

**Dr. med. Yngvar Ustvedt,**

Inspektor der ansteckenden Krankheiten in Kristiania

und

**Dr. A. Diesen,**

Assistenzarzt.

Die epidemische Genickstarre hat in Norwegen ihre größte Ausbreitung in den Jahren 1875—77 gehabt, indem in den 3 Jahren 704 Fälle mit 247 Todesfällen angemeldet wurden. Kristiania ist dagegen im ganzen verschont geblieben mit in allem 10 Fällen von 1866—1910, davon 4 Fälle im Jahre 1905.

Im Jahre 1911 wurden 8 Fälle beobachtet, und 1912 hat die Stadt eine Epidemie von 200 angemeldeten Fällen durchgemacht, wovon 134 oder 67,0 Proz. starben. Die Epidemie hatte ihre größte Ausbreitung in den Frühlingsmonaten mit 21 Fällen im März, 31 im April, 35 im Mai und 15 im Juni; in den letzten Monaten des Jahres wurden nur vereinzelte Fälle angemeldet.

In den ersten 6 Monaten des Jahres 1913 sind 29 Fälle vorgekommen, wovon 15 mit tödlichem Ausgang; später ist nur ein zweifelhafter Fall angemeldet worden.

Woher die Epidemie eingeschleppt ist, hat man nicht eruieren können, und, wie gewöhnlich, wurde nur in einer verschwindenden Anzahl von Familien mehr wie ein Fall beobachtet; dagegen war die lokale Verbreitung der Krankheit bei weitem in den am dichtesten bewohnten Arbeitervierteln am größten.

Nicht weniger wie 24 von den Kranken waren im ersten Lebensjahre und 83 im 2.—5. Jahre.

Diese Beobachtungen konnten darauf deuten, daß Bakterienträger den Krankheitsstoff herumschleppten, und um nun, wenn möglich, dies Verhältnis zu beleuchten, wurden schon vom ersten Anfange der Epidemie die Familien ins Bureau der Gesundheitskommission einberufen, wo Kulturen aus dem Nasenrachenraume angelegt wurden.

Wir gingen in der gewöhnlichen Weise vor: Mit einem gebogenen, sterilen Wattepinsel wurde die hintere und obere Pharynxwand abgewischt; das Material wurde auf eine Ascitesagarplatte (1 Teil Ascitesflüssigkeit und 2 Teile 3-proz. Agar) abgeladen und mit einem sterilen, gebogenen Glasstabe auf dieser und noch auf einer zweiten, mit Kahlbaumscher Lackmuslösung und Dextrose versetzten Platte verrieben. Die Platten wurden nach 24 und 48 Stunden untersucht.

Um einen gefundenen Coccus als Meningococcus zu diagnostizieren, haben wir folgende Merkmale verlangt: Es muß ein gramnegativer Diplococcus von wechselnder Größe sein, welcher willig auf Ascitesagar, nicht aber auf gewöhnlichem Agar aufgeht, und welcher bei Zusatz von Lackmusedextrose, nicht aber bei Zusatz von Lävulose, Säure bildet. Weiter müssen die Kokken durch das spezifische Serum



und nur durch dieses agglutiniert werden; wenn auch normales Pferdeserum in denselben Verdünnungen sie agglutiniert, hat man sie nicht als Meningokokken anzusehen.

In der angegebenen Weise sind in allem 797 Untersuchungen gemacht worden, und nur bei 4 Personen wurden sichere Meningokokken gefunden. Diese Personen waren ein Mann, Polizeibeamter, dessen 2 Kinder erkrankt waren, und bei welchem Meningokokken während 3 Wochen nachgewiesen wurden; nach 4 Wochen waren die Kulturen negativ; ferner 3 Kinder, von denen Meningokokken sich nur einmal züchten ließen, während es bei den folgenden Untersuchungen nicht gelang, sie zu finden.

80mal waren in den Platten Diplokokken aufgegangen, die morphologisch und färberisch Meningokokken ähnelten, die aber bei Agglutinationsversuchen entweder gar keine Agglutination zeigten, oder auch mit normalem Pferdeserum in denselben Verdünnungen wie mit spezifischem Serum die Reaktion gaben.

Für die Agglutinationsversuche wurde ein flüssiges Pferdeserum gebraucht, welches uns Herr Geheimer Ober-Medizinalrat Gaffky mit seiner bekannten Liebenswürdigkeit zur Verfügung gestellt hatte; dieses Serum hatte einen Titer  $\frac{1}{250}$  und kam das ganze Jahr 1912 zur Verwendung.

Als wir so wenig Kokkenträger ausfindig machen konnten, war es die Frage, ob vielleicht das Serum zu alt sei, und ob vielleicht andere Sera bessere Resultate geben würden. Durch die Freundlichkeit Professor Kolles erhielten wir trockenes Serum aus dem Schweizerischen Serum-Institute in Bern (Titer  $\frac{1}{1000}$ ); außerdem hatten wir aus dem Sächsischen Serumwerke ein flüssiges Serum bezogen (Titer  $\frac{1}{500}$ ). Endlich übergab uns Oberarzt Dr. Aaser eine Probe eines flüssigen Serums, welches er durch Immunisierung eines Pferdes für therapeutische Zwecke frisch dargestellt hatte; der Titer war  $\frac{1}{500}$ . Die anderen Sera waren nicht datiert.

Das Serum aus dem Kochschen Institute wie auch Aasers Serum agglutinierten Meningokokkenstämme, aus Cerebrospinalflüssigkeit gezüchtet, bis an den Titer nach 1 Stunde bei  $55^{\circ}$  C; mit den 2 anderen Seris gelang dies nicht regelmäßig; mehrmals war die Reaktion vollständig negativ, oder war nur in den niedrigeren Verdünnungsgraden nachweisbar.

Es wurde ein orientierender Versuch mit 2 sicheren Meningokokkenstämmen (M. und B.) in der Weise gemacht, daß die Mischungen 1 Stunde bei  $37^{\circ}$  und nachher 24 Stunden bei Zimmertemperatur hingestellt wurden. Das Resultat geht aus der Tabelle hervor.

Nach diesem Versuche scheint flüssiges Serum zuverlässiger zu sein als trockenes. Man könnte auch daran denken, daß mittels Meningokokken aus der betreffenden Epidemie dargestelltes Serum leichter die Agglutination auslöst als „fremdes“ Serum, und daß das Alter des Serums eine Rolle spielt. Aaser hat wirklich gefunden, daß sein mit Meningokokken aus der Epidemie in Kristiania frisch präpariertes Serum bessere therapeutische Resultate wie ältere Sera aus verschiedenen Serumfabriken gegeben hat. (Er wird eine Mitteilung darüber in den „Beiträgen zur Klinik der Infektionskrankheiten und zur Immunitätsforschung“ veröffentlichen.)

Für die Agglutination können jedoch diese Umstände kaum ausschlaggebend sein; denn das Serum aus dem Kochschen Institute hat sich mehr wie 1 Jahr vorzüglich bewährt.

Ver- dünnung	Koch-Serum (flüssiges) Titer $\frac{1}{250}$				Aasers Serum (flüssiges) Titer $\frac{1}{500}$				Sächsisches Serum (flüssiges) Titer $\frac{1}{500}$				Schweizerisches Serum (trocken) Titer $\frac{1}{1000}$			
	nach 1 St.		nach 24 St.		nach 1 St.		nach 24 St.		nach 1 St.		nach 24 St.		nach 1 St.		nach 24 St.	
	M.	B.	M.	B.	M.	B.	M.	B.	M.	B.	M.	B.	M.	B.	M.	B.
$\frac{1}{25}$	+	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
$\frac{1}{50}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	?	?
$\frac{1}{100}$	?	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
$\frac{1}{200}$	.	.	.	.	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—
$\frac{1}{250}$	—	—	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
$\frac{1}{300}$	.	.	.	.	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—
$\frac{1}{400}$	.	.	.	.	?	?	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—
$\frac{1}{500}$	.	.	.	.	.	.	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—
$\frac{1}{800}$	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—	—	—	—
$\frac{1}{1000}$	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	—	—	—	—
Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Was unseren Befund von gesunden Kokkenträgern betrifft, so ist es ganz auffallend, daß wir trotz so vieler Untersuchungen nur viermal die Meningokokken fanden. Dies steht ja im direktesten Widerspruch mit den Erfahrungen aus den Epidemien in Schlesien und in Westdeutschland, obschon auch andere Forscher recht häufig Familien mit Meningitisfällen, ohne Kokkenträger zu finden, untersucht haben.

Wir möchten noch hinzufügen, daß auf unserem Ascitesagar sich aus der mittels Lumbalpunktion entleerten, getrübbten Flüssigkeit immer ohne Schwierigkeit Meningokokken züchten ließen.

Kristiania, Oktober 1913.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage der experimentellen Masern.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Kaiserl. Universität zu Moskau  
(Direktor: Privatdozent Dr. W. Kedrowsky).]

Von Dr. med. A. Jurgelunas, Assistenten am Institut.

In der letzten Zeit sind zahlreiche Arbeiten der Aufklärung der Aetiologie der Masern gewidmet worden. Als Material für die bakteriologische Untersuchung dienten Blut, Sekret der Schleimhaut der Mundhöhle, Ohren und Conjunctiva der Kranken, sowie auch pneumonische Herde und Milze von an Masern Gestorbenen. Wie aus der Literatur hervorgeht, zeichnet sich die Bakteriologie der Masern durch ihre Mannigfaltigkeit aus. Die von verschiedenen Autoren entdeckten Mikroorganismen können in 3 Gruppen eingeteilt werden, Zooparasiten, Kokken und Stäbchen. Vertreter der ersten Gruppe sind von Doehle und Behla in Form von protoplasmatischen Körpern mit Geißeln sowohl im Blutplasma, als auch in den roten Blutkörperchen gefunden worden. Die zweite Gruppe repräsentieren einzelne Kokken, Diplokokken und Streptokokken, welche von Manfredi, Lesage, Pinna und Mariani, Menschikoff und Schottelius beschrieben worden sind. Endlich sind von der größten Mehrzahl der Autoren, und zwar von Canon und Pie-

31\*

licke, Czajkowsky, Grigorieff, Arsamasskow, Kulescha, Albersheim, Slatogorow, Pomjalowsky und Iwanow Stäbchen isoliert worden, die ihren morphologischen und biologischen Eigenschaften nach einander ähnlich sind, oder sich schroff voneinander unterscheiden.

Somit ist die Frage über die Natur und den Charakter des Masern-erregers, trotz der Anwendung neuester bakteriologischer Untersuchungsmethoden, bis jetzt noch absolut unaufgeklärt. In den letzten Jahren sind Versuche gemacht worden, die Erforschung der Masern auf experimentellem Wege zu fördern. Die ersten Versuche der künstlichen Infektion sind an Menschen Ende des 18. und zu Anfang des 19. Jahrhunderts ausgeführt worden.

Impfungen von Blut, Schleim, Tränenflüssigkeit und desquamiertem Epithel haben, einigen Autoren zufolge (Höme, Speranza, Katona), positive Resultate ergeben, nach den Angaben anderer fielen sie negativ aus (Themmen, Albers).

Die Versuche der künstlichen Uebertragung von Morbillen auf Tiere stammen aus der jüngsten Zeit. Die Erhaltung von experimentellen Masern bei Tieren würde ohne Zweifel ein breites Feld für die Aufklärung der Natur des Infektionserregers eröffnen und viel zur Beantwortung einer ganzen Reihe von Fragen aus dem Gebiete der Immunität bei dieser Erkrankung beitragen.

Warschawsky hatte 1895 als erster das Blut von Masernkranken während des Auftretens des Exanthems auf 5 Ferkel und 2 Kaninchen verimpft. Die Ferkel erhielten das Blut intravenös, subkutan und in die Bauchhöhle, die Kaninchen nur intraperitoneal injiziert. Die Impfungen blieben in sämtlichen Fällen resultatlos, indem sie keinerlei Symptome hervorriefen, die denjenigen bei Masern ähnlich sein könnten. Die Blutuntersuchung bei diesen Tieren im Laufe längerer Zeit nach dem Versuche ergab ebenfalls negatives Resultat.

1898 überimpfte Josias den Nasenschleim von masernkranken Kindern auf die Mucosa der Nasenhöhle von 8 Affen, wobei 3 von denselben an allgemeinen und lokalen Erscheinungen erkrankten, die denjenigen bei Masern ähnlich waren. Leider gibt der Verfasser keine ausführliche Beschreibung der klinischen Symptome, weshalb seine Arbeit an Wert bedeutend verliert.

Grünbaum stellte 1904 Versuche mit Uebertragung von Masern auf 2 höhere Affen (Schimpanse) an.

Schimpanse No. 1, 22. Mai 1902. Der Affe wurde mit einem Mantel von Masernkranken angekleidet. Ohne Erfolg.

5. Juni: Mit Hilfe eines Tampons die Mucosa der Nase und des Rachens ausgeschmiert. Temperatur: 100,2° F.

7. Juni: Schnupfen, 99,6° F.

11. Juni: Leichte Roseola, 102° F.

15. Juni: Exitus letalis, 99,2° F.

Schimpanse No. 2. Injektion von 2 ccm Blut von einem Masernkranken. Ohne Erfolg.

8. Febr.: Einverleibung von 4 ccm Blut eines Masernkranken. Ohne Erfolg.

22. Febr.: Ein Mantel vom Masernkranken umgelegt. Ohne Erfolg.

Somit erhielt Grünbaum bei seinen Versuchen in einem Falle ein negatives Resultat, im anderen ging der Affe unter Erscheinungen zugrunde, die für Masern zu wenig typisch waren.

Pomjalowsky injizierte 1906 einem Meerschweinchen, Kaninchen und Ferkel Blut von Masernkranken, das auf der Höhe der Erkrankung entnommen wurde. Das Schweinchen und das Kaninchen erhielten das

Blut subkutan injiziert, das Ferkel ins Blut in der Menge von 1 ccm. Die Tiere blieben 16 Tage unter Beobachtung und zeigten während dieser Zeit keinerlei Abweichungen von der Norm. Die bakterioskopischen und bakteriologischen Untersuchungen des Blutes fielen negativ aus.

1911 stellten Anderson und Goldberger Masernversuche an niederen Affen an (*Macacus rhesus*). Das defibrinierte Blut von Kranken im Exanthemstadium wurde subkutan, ins Herz, unter die Dura mater und in die Bauchhöhle eingespritzt. Von 9 geimpften Affen erkrankten 4. 9—10 Tage nach der Injektion trat Temperatursteigerung auf, bei 3 von diesen 4 zeigte sich papulöses Exanthem, besonders stark am Gesicht, Kopf, an der Brust und auf dem Bauch. Das Blut der erkrankten Affen wurde 5 weiteren Affen injiziert, die auf die Blutverimpfung (von Masernkranken) nicht reagierten, wobei bei 3 von ihnen die Infektion positiv ausfiel. Ein Affe, der mit den infizierten in Berührung stand, erkrankte 10 Tage nach Beginn des Versuches. Aus den weiteren Untersuchungen ging hervor, daß die Ansteckung leichter erzielt wird, wenn das Blut kurz vor dem Ausbruch des Exanthems oder in den ersten 24 Stunden nach Ausbruch entnommen wird. Nach den Beobachtungen der Autoren befindet sich das Masernvirus im Sekret der Mund- und Nasenhöhle der Kranken, passiert den Filter von Berkefeld und besitzt ziemlich konstante Eigenschaften in bezug auf Temperaturschwankungen. Auf Grund ihrer Untersuchungen kommen Anderson und Goldberger zu dem Schlusse, daß sowohl die Infektion der Affen mit Masern gelingt, die Empfänglichkeit derselben dieser Krankheit gegenüber nicht stark ausgeprägt ist und in bedeutendem Maße von den individuellen Eigenschaften des Organismus abhängt.

Nicolle und Conseil führten einem Affen (*Macacus sinicus*) in die Bauchhöhle 6 ccm Blut ein, das einem Masernkranken 24 Stunden vor Ausbruch des Exanthems entnommen wurde. Am 9. Tage stellten sich beim Affen Temperatursteigerungen ein. Die Temperatur stieg bis 40° C und fiel nach 5 Tagen ab. Andere, für Masern charakteristische Erscheinungen blieben aus.

Einem anderen Affen — einem jungen — wurden ebenfalls in die Bauchhöhle 2 ccm Blut von einem Masernkranken am 2. Tage nach Ausbruch des Exanthems injiziert. Das Tier reagierte gar nicht auf die Impfung.

E. I. Marzinowsky stellte einen Versuch an einem Affen (*Macacus rhesus*) an; es gelang ihm nicht, das typische Masernbild zu erhalten.

Aus den angeführten Literaturangaben ist zu ersehen, daß Versuche mit Uebertragung von Masern an einer ganzen Reihe von Tieren angestellt worden sind. Den Beobachtungen der Autoren zufolge sind Meerschweinchen, Kaninchen und Ferkel dieser Krankheit gegenüber immun. Hinweise auf positive Resultate von experimentellen Masern, erzielt bei niederen und höheren Affen, finden sich bei Grünbaum, Anderson und Goldberger. Die vielversprechenden Versuche dieser Autoren mußten großes Interesse erwecken, und aus diesem Grunde beschloß ich, dieselben nachzuprüfen, und dies um so mehr, als bis zur letzten Zeit die Meinung dominierte, daß Masern bei keiner Tierart vorkommen und daß die Tiere bei spontaner Uebertragung von Masern gar keine Rolle spielen.

Unsere Versuche sind folgendermaßen ausgeführt worden:

**Versuch No. 1.** Ein Affe (Pavian) erhielt am 4. Okt. 1912 ins Blut 5 ccm defibrinierten Blutes von dem Masernkranken S. T. mit Koplikflecken injiziert: das Exanthem zeigte sich beim Kranken am nächsten Tage. Die Aussaat des Blutes auf Agar, Blutagar und Martinsche Bouillon erwies sich steril (unter Bedingungen der Aerobiose). Das Tier blieb bis zum 13. Okt. vollkommen gesund.

13. Okt.: Der Affe ißt ungerne, ist schlaff. Temperatur 38,2° C. 14. Okt.: Ißt nichts, liegt auf der Seite. Temperatur am Morgen 38,1° C, am Abend 36,5° C. Rötung des Rachens. Auf der Haut des Bauches beobachtet man einige kleine, rosafarbene Flecke. 15. Okt.: Am Morgen Exitus letalis.

**Sektion:** Affe von mittlerer Ernährung. Am Gesicht, auf der Haut des Bauches, der Axillargegend und der inneren Oberfläche der Oberschenkel und teilweise auch in der Kreuzgegend bemerkt man ein Exanthem in Form von Flecken von rosa-bläulicher Farbe und von der Größe eines Linsenkornes bis 3—4 mm. Die Flecke im Gesicht sind bedeutend kleiner und schwächer gefärbt im Vergleich zu denjenigen, die sich auf dem Bauche und in der Inguinalgegend finden. Einige der größeren Effloreszenzen heben sich etwas von der normalen Haut ab. Die Respirationsorgane und das Gefäßsystem ohne Abweichungen von der Norm. Die Leber deutlich vergrößert und hyperämisch. Die Milz etwas vergrößert. Die übrigen Organe der Bauchhöhle ohne sichtbare Veränderungen. Aussaaten von Blut, Leber und Milz auf Agar und Bouillon blieben steril.

Die Leiche des Affen wurde dem Chefarzt des Morosoffschen Kinderhospitals, N. N. Alexeeff, und den Ordinatoren desselben Krankenhauses, Dr. W. A. Colly, B. A. Egis und N. I. Langowoi, gezeigt. Sie sprachen sich einstimmig dahin aus, daß der Affe nicht an Masern zugrunde gegangen war, da das Exanthem beim Tiere mit dem morbillösen nicht identisch war und der Tod ohne Temperaturreaktion eingetreten war.

**Versuch No. 2.** Affe (*Macacus cynomolgus*). Am 4. Okt. 1912 subkutane Injektion von Schleim von demselben Kranken wie im vorhergegangenen Versuch, mit einem sterilen Tampon aus dem Rachen entnommen. Vor der Einverleibung wurde der Schleim sorgfältig in 10 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung verrieben. Das Tier blieb 40 Tage unter Beobachtung und war die ganze Zeit gesund.

**Versuch No. 3.** *Macacus cynomolgus*. Am 15. Okt. 1912 subkutane Injektion von 4 ccm defibrinierten Blutes der Kranken M. K. am 1. Tage des Exanthemausbruchs. Das Blut der Kranken erwies sich bei der Aussaat steril. Der Affe reagierte auf die Impfung nicht. Die Dauer der Beobachtung betrug 35 Tage.

**Versuch No. 4.** *Macacus cynomolgus*. Am 15. Okt. 1912 subkutane Injektion von Schleim, entnommen derselben Kranken wie unter No. 3 mit einem sterilen Tampon aus dem Rachen. Vor der Injektion wurde der Schleim in physiologischer Kochsalzlösung verrieben. Am 21. Okt. (6. Versuchstag) ging der Affe ein. Die Aussaat von Blut, Leber und Milz ergab reine Streptokokkenkultur.

**Versuch No. 5.** *Macacus cynomolgus*. Am 16. Dez. 1912 subkutan 3 ccm und ins Blut 2 ccm defibrinierten Blutes der Kranken W. A., am 2. Exanthemtage injiziert. Das Blut erwies sich steril. Der Affe blieb nach der Injektion vollkommen gesund. Die Beobachtung dauerte 40 Tage.

**Versuch No. 6 und No. 7.** Zwei Affen (*Macacus cynomolgus*) wurden am 10. März 1913 in einem Käfig auf die Masernabteilung des Morosoffschen Kinderhospitals gebracht. Die ersten 5 Tage befanden sich die Tiere in einem Zimmer, in welchem Kinder im Stadium der Akme lagen, in den nächstfolgenden 2 Tagen kamen sie ins allgemeine Zimmer, in welchem Rekonvaleszenten den größten Teil des Tages zubringen. Für die Kinder war es eine große Zerstreuung; sie gaben den Affen Brot, Zucker und verschiedene Süßigkeiten. Nach 7-tägigem Aufenthalt im Hospital wurden die Affen ins bakteriologische Institut zurückgebracht. Die Temperaturmessungen geschahen morgens und abends. Der Affe No. 6 blieb gesund; Dauer der Beobachtung 48 Tage. Beim Affen No. 7 war die Temperatur bis zum 1. April normal. Vom 1. April ab Temperatursteigerungen und am 3. April Exitus letalis. Die Sektion ergab akute Peritonitis. Die bakterioskopische und bakteriologische Untersuchung des Blutes ergab eine reine Streptokokkenkultur.

**Versuch No. 8.** *Macacus cynomolgus*, der nach dem Versuch No. 6 am Leben geblieben war. Einreibung am 28. April 1913 in die Mucosa der Mundhöhle von Schleim aus dem Rachen und Belägen auf der Zunge, entnommen mit einem sterilen Tampon der Kranken K. S. mit Koplikflecken, jedoch ohne Exanthem, und dem Kranken P. P. am 2. Tage nach Ausbruch des Exanthems. Der Affe blieb gesund. Dauer der Beobachtung 35 Tage.

**Versuch No. 9.** *Macacus rhesus*. Einreibung am 28. April von Schleim von der Zunge und aus dem Rachen der Kranken K. F. in die Schleimhaut der Mundhöhle am 1. Exanthemtage. Der Affe reagierte absolut nicht auf die Einreibung. Dauer der Beobachtung 35 Tage.

Versuch No. 10. *Macacus rhesus*. Am 12. Mai in die skarifizierte Schleimhaut der Mundhöhle Schleim und Beläge eingerieben, entnommen mittels eines Tampons dem Kranken S. L. am 1. Tage des Exanthemausbruchs und der Kranken S. S. am 3. Tage nach dem Ausbruch. Der Affe ist gesund und steht 25 Tage unter Beobachtung.

Somit zerfallen unsere Versuche an Affen mit Uebertragung von Masern in 3 Gruppen. Zur ersten gehören Versuche mit Einverleibung von defibriniertem Blut der Masernkranken ins Blut und subkutan; zur zweiten Versuche mit direktem Kontakt der Affen mit den Kranken und zur dritten endlich Versuche mit Einreibung von Schleim und Belägen der Kranken sowohl in die intakte, als auch in die skarifizierte Schleimhaut der Mundhöhle und des Rachens der Affen.

Sämtliche Versuche, die Affen mit Masern zu infizieren, blieben resultatlos. Von den 10 Versuchen erscheint derjenige mit dem Pavian am meisten rätselhaft und interessant. Obgleich nach der Meinung der Spezialkollegen das bei diesem Affen aufgetretene Exanthem mit dem morbillösen auch nicht identisch war und die Temperaturreaktion fehlte, spricht doch eine ganze Reihe von Symptomen, wie der Tod des Tieres am 12. Tage nach der Impfung, die Sterilität des Blutes, Vorhandensein von Angina, Fehlen irgendwelcher scharf ausgesprochener Veränderungen der inneren Organe, die die Todesursache erklären könnten, und endlich das eigentümliche Exanthem, für irgendeine Erkrankung, welche bis zu einem gewissen Grade Aehnlichkeit mit Masern hat.

Die Frage betreffend die Möglichkeit der Uebertragung von Masern auf Affen ist bisher noch lange nicht aufgeklärt; trotzdem werden in einigen neuesten Lehrbüchern der Bakteriologie die experimentellen Masern als durch die Arbeiten von Grünbaum, Anderson und Goldberger bewiesen hingestellt. Die Resultate der Untersuchungen dieser Autoren geben uns aber nicht das Recht, positive Schlüsse zu ziehen. Und in der Tat reagierte bei Grünbaum ein Schimpanse gar nicht auf die Masernimpfung, beim anderen beobachtete man nur Schnupfen und schwach ausgeprägte Roseola (slight roseola).

In bezug auf den letzten Fall ist der Verf. sich selbst im unklaren, ob die wirkliche Ursache des Todes Masern gewesen waren. Sowohl die Sektion des Affen, als auch Aussaaten von Blut blieben aus.

Anderson und Goldberger erhielten bei niederen Affen mehr beweisende Resultate. Obwohl es diesen Forschern gelang, bei den Tieren eine Infektion mit masernähnlichen Erscheinungen zu erzielen, blieb doch die Erkrankung bei vielen Affen aus, und zum Schlusse kommen sie selbst zu dem Resultat, daß die Empfänglichkeit der Affen dieser Infektion gegenüber nicht stark ist und in hohem Maße von den individuellen Eigenschaften des Organismus abhängt. Die Versuche von Josias, Nicolle und Conseil und E. I. Marzinowsky müssen als durchaus mißlungen betrachtet werden. Somit bleibt die Frage über die Möglichkeit der Uebertragung von Masern auf Tiere noch un-aufgeklärt.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, dem Chefarzt des Morosoffschen städtischen Kinderhospitals, Dr. N. N. Alexeeff, meinen innigsten Dank auszusprechen für die Erlaubnis, das Material des Hospitals für meine Versuche zu benutzen.

Ich sage auch meinen wärmsten Dank dem Direktor des bakteriologischen Instituts, Dr. med. W. I. Kedrowsky, für die wertvollen Ratschläge bei der Ausführung dieser Arbeit.

**Literatur.**

- 1) Doehle, P., Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. p. 906.
- 2) Behla, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 20. 1896. p. 561.
- 3) Manfredi, Fortschr. d. Med. Bd. 4. 1886.
- 4) Lesage, Compt. rend. Soc. de Biol. 1900; zit. nach Baumgartens Jahresber.
- 5) Pinna u. Mariani, Baumgartens Jahresber. 1900.
- 6) Menschikoff, W. K., Russky Wratsch. 1904. No. 26.
- 7) Schottelius, München. med. Wochenschr. 1904. No. 9.
- 8) Canon u. Pielicke, Berlin. klin. Wochenschr. 1892. No. 16.
- 9) Czajkowsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 18. 1895. p. 517.
- 10) Grigorieff, Arb. d. kinderärztl. Gesellsch. zu Moskau. 1893.
- 11) Arsamasskoff, Gazeta Botkina. 1898. No. 41 u. 42.
- 12) Kulescha, G. S., Ueber die Pneumonie bei Masern. [Dissert.] Petersburg 1898.
- 13) Albersheim, zit. nach Pomjalowsky.
- 14) Slatogoroff, S. I., Russky Wratsch. 1904. No. 28.
- 15) Pomjalowsky, W., Das Maserubakterium und das Antimaseruserum. [Dissert.] Petersburg 1906.
- 16) Iwanoff, A., Die Bakteriologie der Masern. [Dissert.] Moskau 1908.
- 17) Home, zit. nach Pomjalowsky.
- 18) Speranza, zit. nach Pomjalowsky.
- 19) Katona, zit. nach Pomjalowsky.
- 20) Themmen, zit. nach Pomjalowsky.
- 21) Albers, zit. nach Pomjalowsky.
- 22) Warschawsky, W. M., Zur Aetiologie und klinischen Bakteriologie von Masern und deren Komplikationen. [Dissert.] Petersburg 1895.
- 23) Josias, zit. nach Pomjalowsky.
- 24) Grünbaum, Brit. med. Journ. 1904.
- 25) Anderson u. Goldberger, The Lancet. 1911. p. 699 u. 1348.
- 26) Nicolle et Conseil, Compt. rend. hebdom. d. Séanc. de l'Acad. d. Scienc. T. 153. 1911. p. 1522.
- 27) Marzinowsky, E. I., Obschestwenni Wratsch. 1912. p. 115.

**Nachdruck verboten.**

## Nouvelles observations sur la Trombidiase des chèvres et sur sa transmission à l'homme.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 2 figures.

Dans le volume 56 (Referate) 1913 p. 129 de ce journal, j'ai publié un travail d'ensemble sur les Trombidiases de l'homme et des animaux, et sur une nouvelle forme observée par moi sur les chèvres, et due aux larves de *Microtrombidium pusillum* Herm<sup>1)</sup>.

Au courant de l'automne 1913, j'ai eu l'occasion de faire quelques nouvelles observations sur cette dernière Trombidiase, observations qui complètent celles précédemment publiées en y ajoutant quelques faits nouveaux.

Un supplément d'enquête que j'ai fait en Valteline (Alpes italiennes), m'a démontré que la Trombidiase des chèvres se rencontre dans d'autres parties de la vallée outre celle déjà signalée dans mon précédent travail. Ainsi elle s'observe à Marsciana (V. Malenco) et dans le V. Fontana, dans des zones au-dessus de 1000 m d'altitude. A Marsciana elle s'observerait non seulement dans les bois de *Betula nana*, mais même dans

1) Dans ce travail, la fig. 1 devait être placée avec le côté qui est à droite, en bas.



ceux de noisetiers. Dans le V. Fontana elle est connue sous le nom de Fugazzà, c. à d. tacheté de feu, à cause des taches rouges que les amas d'acariens déterminent sur la tête des chèvres. Un vieux chasseur m'a dit qu'une fois on l'observait en Valteline assez souvent sur les chiens de chasse quand on chassait à la montagne: ces animaux présentaient des taches rouges surtout sur la tête, perdaient l'appétit, présentaient des vomissements et on les traitait avec des applications d'une infusion de tabac dans le vinaigre.

Au mois d'août 1913, j'ai été examiner les chèvres des bois de *Betula nana* de S. Giacomo d'Albosaggia où j'avais constaté la maladie en 1912. Aucune chèvre n'était atteinte. Des recherches de l'acarien sur les branches de *B. nana* et sur le sol ont été complètement négatives. Ce n'est qu'au mois de septembre que la maladie a paru de nouveau sur les chèvres de cet endroit et le 26 septembre j'y ai trouvé toutes les chèvres atteintes par la maladie et présentant les lésions localisées surtout au pourtour des yeux, aux oreilles, aux joues et à la nuque. Déjà à distance on remarquait l'Anneau orangé autour des yeux. Plusieurs moutons étaient au pâturage avec les chèvres. Aucun n'était atteint de Trombidiase. Ce fait de l'absence ou de la rareté de l'infection chez le mouton au pâturage dans la même zone infectée doit-il être cherché dans la localisation des acariens sur les branches de *B. nana*? S'il en était ainsi, la chose s'expliquerait comme suit: les chèvres mangent surtout les extrémités des branches de *B. nana*, appuyant leurs pattes de devant sur le tronc et parfois pliant sur le sol l'arbre lui même. En agissant ainsi, elles secouent les branches et les acariens tombent, surtout sur leur tête, et s'y fixent. Les moutons au contraire ne s'attaquent pas à *B. nana*, mais broutent simplement sur le sol sans secouer les arbres, de sorte que moins facilement ils s'infectent. La fig. 1 montre très bien la chose: les chèvres ont incliné sur le sol un bouleau et mangent les extrémités des branches, tandis qu'un mouton broute simplement l'herbe du pâturage.



Fig. 1.

Le 26 septembre, j'ai de nouveau examiné un grand nombre de *B. nana* et des feuilles ramassées sur le sol, sans pouvoir y constater les acariens, tandis qu'un paysan du V. Malenco m'a assuré les avoir trouvés sur les branches des noisetiers dans une zone où la Trombidiase des chèvres s'observe. Mais si je n'ai pu réussir à trouver les acariens dans le bois en question, en y restant longtemps et en secouant les branches, ou bien par le fait d'avoir manipulé les chèvres infectées, j'ai été moi-même attaqué par le parasite. Tout de suite après avoir quitté les bois, j'ai eu sur tout le corps, mais surtout aux jambes et aux avant-bras, la sensation de démangeaisons très vives. Ces démangeaisons sont devenues de plus en plus fortes et insupportables, surtout le soir. La nuit du 27 au 28 septembre, elles m'empêchèrent même de dormir et elles





Fig. 2.

persistèrent jusqu'au 1 octobre où elles ont diminué, pour disparaître tout à fait les jours suivants. Examinant dès les premiers jours, la surface de mon corps, j'ai trouvé les lésions disséminées partout, mais surtout localisées aux jambes et aux avant-bras, moins fréquentes au ventre, à la poitrine et aux aisselles. Elles étaient représentées (fig. 2) par une éruption de pustules de 3—4—5 mm de diamètre, isolées ou confluentes par 2 ou 3. Elles étaient formées d'une partie centrale proéminente, et par une auréole périphérique rose vif, à contours légèrement ondulés. Dans une seule de ces pustules, située à l'avant-bras, j'ai trouvé fixée une larve de *M. pusillum*. Dans les autres il n'y en avait point, mais j'en ai trouvé 2 ou 3 exemplaires absolument libres à la surface de la jambe. Ces pustules sont devenues de plus en plus pâles, mais elles étaient encore visibles le 7 octobre. En dehors des démangeaisons insupportables, je n'ai pas eu de symptômes généraux.

Cette observation confirme l'affirmation des bergers, citée dans mon précédent travail, que le séjour dans les bois de *B. nana* leur provoque d'insupportables démangeaisons, et il s'est à se demander si dans les cas d'éruptions cutanées accompagnées de fortes démangeaisons qu'on observe souvent dans les zones alpines et qui m'ont été signalées par certains médecins, on ne doit pas incriminer les larves de *M. pusillum*.

### Résumé.

Les larves de *M. pusillum* qui déterminent la Trombidiose des chèvres en Valteline, peuvent déterminer chez l'homme une éruption cutanée accompagnée de violentes démangeaisons.

Lausanne, 20 octobre 1913.

*Nachdruck verboten*

## Diplokokkenbefunde bei unseren Haustieren.

Von Prof. Dr. Miessner und Dr. Kohlstock <sup>1)</sup>.

In den letzten Jahren sind von verschiedenen Autoren mehrere Arbeiten veröffentlicht worden, in denen Diplokokkenbefunde bei unseren Haustieren mitgeteilt sind. Die genannten Mikroorganismen sind teil-

1) Der experimentelle Teil der Arbeit wurde am 31. März 1912 abgeschlossen, aus

weise als Erreger größerer Seuchengänge festgestellt und vorzugsweise beim Jungvieh beobachtet worden.

So hat Krautstrunk (1) innerhalb 2 Jahren bei 73 Kälbern in 9 Fällen Diplokokken in Reinkultur gezüchtet, während er sie in weiteren 7 Fällen in Mischinfektion mit Colibacillen fand. Bei 8 Kälbern lag eine Veränderung am Nabel vor, so daß auf eine Infektion vom Nabel aus geschlossen werden konnte. Die Erreger hatten nach Krautstrunk große Ähnlichkeit mit den Pneumokokken des Menschen. Sie waren sehr oft von einer Kapsel umgeben, die im Kulturausstrich nicht beobachtet werden konnte, und waren grampositiv. Auf künstlichen Nährböden waren sie sehr schwer zu züchten; am besten wuchsen sie auf Blutagar. In Serumbouillon erfolgte üppiges Wachstum, dagegen gediehen sie in gewöhnlicher oder Zuckerbouillon nicht. Kaninchen und Meer-schweine waren sehr schwer zu infizieren, Mäuse erwiesen sich dagegen als sehr empfänglich. Es gelang Krautstrunk, mit den gezüchteten Diplokokken neugeborene Kälber, die noch keine Nahrung zu sich genommen hatten, tödlich zu infizieren, und zwar per os, vom Nabel aus und intravenös, wobei die Erreger eine hohe Pathogenität zeigten. Ihre Virulenz besaßen die Diplokokken noch, nachdem sie  $\frac{3}{4}$  Jahre lang auf künstlichen Nährböden gezüchtet waren; allerdings waren sie monatlich einmal durch Mäuse geschickt worden. Zwecks Gewinnung eines Schutzserums wurden ein Esel und Kaninchen mit Bouillonkulturen zu immunisieren versucht, es gelang aber nicht, ein schutzkräftiges Serum zu erhalten.

Im Anfange des Jahres 1910 beobachtete Gärtner (2) auf einem Gute in der Nähe von Greifswald in einem Schafbestande eine seuchenhafte Erkrankung, die sich vornehmlich in einer entzündlichen Affektion der Schleimhaut der oberen Luftwege bei älteren Schafen und Lämmern, meist mit tödlichem Ausgange, äußerte. Anfangs hatte die Erkrankung ihren Ausgang vom Genitalapparat genommen, indem zunächst nur Mutterschafe kurz nach dem Lammern unter den Erscheinungen einer schweren Mastitis verendeten. Bei allen Tieren fand Gärtner in Ausstrichen sämtlicher Organe massenhaft einen lanzettförmigen Diplococcus, der gramfest und stets von einer Kapsel umgeben war, die hernach in Kulturen meist nicht nachgewiesen werden konnte. Kettenbildung im Schafkörper wurde einmal beobachtet, dagegen zeigten sich zahlreiche Ketten von 8—12 Gliedern in flüssigen Nährböden. Von kleineren Versuchstieren erwiesen sich namentlich weiße Mäuse, dann aber auch Kaninchen, weniger Ratten und Sperlinge empfänglich. Auf Agar wuchsen die Diplokokken anfangs spärlich, später besser und waren dort 4—6 Wochen lebensfähig. Auf Löfflerschem Serum war das Wachstum sehr gut, auf Blutagar sogar üppig zu nennen. Hämolyse wurde dabei niemals beobachtet. Bouillon wurde anfangs gleichmäßig getrübt, später trat Klärung unter Bildung eines sandartigen Bodensatzes ein. Daß die von ihm gefundenen und gezüchteten Bakterien auch wirklich die Erreger der Seuche waren, bewies Gärtner dadurch, daß es ihm gelang, durch Inhalation, Verfütterung und intraabdominale Infektion Schafe zu infizieren und bei diesen die von ihm vorher beobachteten Krankheitserscheinungen nebst pathologisch-anatomischen Veränderungen hervorzurufen. Gärtner spricht seinen Erreger als einen atypischen Stamm des *Diplococcus lanceolatus* oder *pneumoniae* an und glaubt, seine Ansicht durch Immunisierung von Mäusen, die er durch Behandlung mit Antipneumokokkenserum gegen eine Infektion mit tödlichen Dosen seiner Diplokokken schützen konnte, bewiesen zu haben. Bei Heilimpfungsversuchen an kranken Schafen zeigte das Serum keine nennenswerte Wirkung. Von einer in größerem Maßstabe damit auszuführenden Schutzimpfung mußte Gärtner aus äußeren Umständen absehen.

Ein unter ähnlichen Erscheinungen verlaufendes seuchenhaftes Schafsterben wurde von Wiemann (3) beobachtet. In dem Krankheitsbilde trat zunächst eine Metritis mit anschließender Peritonitis in den Vordergrund, neben diesen Veränderungen beschreibt Wiemann aber auch eine entzündliche Schwellung der Schleimhäute der Nasenhöhle, des Rachens und der Luftröhre. In akuten Fällen beschränkten sich die pathologisch-anatomischen Veränderungen häufig auf eine trübe Schwellung der großen Körperparenchyme. Bei chronischem Verlauf der Erkrankung wird eine fibrinöse Pleuritis und Pericarditis als typisch hingestellt. In den Ausstrichen sämtlicher Organe fand Wiemann stets kurzgliedrige Streptokokken, die er als Erreger der Seuchengänge ansah. Oft beobachtete er die Mikroorganismen auch in Einzel- bzw. Diplokokkenform. Im Gegensatz zu den Gärtnerschen Diplokokken zeigten diese Bakterien stets eine runde Form und ließen niemals eine Kapsel erkennen. Sie wuchsen schwach auf Agar, gut auf Traubenzucker und Blutagar, auf dem sie stets hämolysierende Eigenschaft

äußeren Gründen konnte das Manuskript erst Mitte November 1913 der Redaktion übersandt werden.

zeigten. Ihr Wachstum in Traubenzucker- und Serumbouillon war gleichfalls sehr gut. In bezug auf Gramfestigkeit zeigten sie ein schwankendes Verhalten. In Ausstrichen aus dem Tierkörper waren sie fast gramnegativ; während sie in solchen aus flüssigen Nährböden so gut wie gramfest waren. Sie erwiesen sich als pathogen für Mäuse und Kaninchen, weniger für Meerschweine, die nur nach Infektion mit großen Dosen eingingen. Die Frage, ob die von ihm gefundenen Erreger mit den Gärtnerischen identisch sind, hat Wiemann offen gelassen wegen des Unterschiedes in der Kapselbildung, Gramfestigkeit und Hämolysebildung.

Einen interessanten Diplokokkenfund hat Balzer (4) noch mitgeteilt. Er fand auf dem Schlachthofe zu Rostock bei 4 notgeschlachteten Kälbern, die bei der Beschau das Bild einer Sepsis boten, als Erreger einen *Diplococcus*. (Die Tiere wurden an verschiedenen Tagen geschlachtet, und die einzelnen Fälle standen miteinander nicht in Zusammenhang.) Die Diplokokken fanden sich in Ausstrichen sämtlicher Organe. Sie waren völlig gramfest, hatten eine lanzettförmige Gestalt und waren von einer Kapsel umgeben, die in Kulturen nur zuweilen nachweisbar war. Im Kondenswasser von Löffler-Serum kam es auch zur Bildung von kurzen Ketten (6—8 Glieder). Empfänglich erwiesen sich nur Mäuse, während Kaninchen und Meerschweine zwar erkrankten, sich aber wieder erholten. Wegen der morphologischen Ähnlichkeit mit dem Fränkischen *Diplococcus lanceolatus* hat Balzer die von ihm gefundenen Erreger mit dem Fränkischen kulturell, biologisch und serologisch vergleichend geprüft. Auf allen differentialdiagnostisch herangezogenen Nährböden zeigten beide Diplokokkenarten das gleiche Verhalten. Ein mit dem von ihm gezüchteten Erreger intravenös behandeltes Kaninchen lieferte ein Serum, das beide Stämme gleich hoch agglutinierte. Eine Agglutination mit Pneumokokkenantiserum wurde unterlassen. Auf Grund von vergleichenden Komplementbindungsversuchen gelang aber Balzer der Nachweis, daß sein Erreger mit dem *Pneumococcus* identisch war.

Da bei 2 Kälbern eine Nabelentzündung vorgelegen hatte, nahm Balzer an, daß die Infektion auf diesem Wege zustande gekommen war.

Schließlich ist noch eine kurze Mitteilung von Knuth und Sommerfeld (5) zu erwähnen, in der über den Diplokokkenbefund bei einem Zirkusbären berichtet wird, bei dem pathologisch-anatomisch eine hämorrhagische Laryngotracheitis und ein leichter Milztumor festgestellt war. Die Diplokokken waren sehr zahlreich in den Ausstrichen vorhanden, gramfest und besaßen eine Kapsel. Die Bakterien wurden einzeln oder in kurzen Ketten angetroffen. Als empfänglich erwiesen sich Mäuse und Kaninchen. Auf Agar wuchsen die Diplokokken spärlich, dagegen gut auf Löfflerschem Serum und erstarrtem Rinderserum. Auf Grund dieser morphologischen und biologischen Eigenschaften hielten sich die Autoren für berechtigt den von ihnen aus dem Bären gezüchteten *Diplococcus* für identisch mit dem *Diplococcus lanceolatus* Fränkel anzusprechen, eine Annahme, die erst noch durch weitere vergleichende biologische und serologische Untersuchungen zu bestätigen sein dürfte.

Nach Fertigstellung unserer Arbeit, aber vor Drucklegung derselben, ist eine interessante Arbeit von Christiansen aus dem Jensenschen Laboratorium über Diplokokkeninfektion bei Kälbern veröffentlicht worden. Derselben entnehmen wir, daß schon 1899 Poels (10) Streptokokken als Erreger von Kälberseuchen festgestellt und auch Jensen (9) in einer Anzahl von Fällen eine Infektion mit Diplokokken bei Kälbern ermittelt hat.

Christiansen selbst beobachtete bei etwa 500 Untersuchungen von Kälbern in 23, aus 19 verschiedenen Beständen herrührenden Fällen Diplokokkeninfektionen. Nach Christiansen handelte es sich stets um eine ausgesprochene Septikämie mit schwarzroten Verfärbung wie Schwellung der Milz, wobei aber die harte, gummiartige Konsistenz auffiel, eine Veränderung, die wir gleichfalls beobachteten und als besonders typisch für derartige Infektionen bezeichneten.

Endlich sind noch die in jüngster Zeit von Miessner und Lange (11) in Fischmehl ermittelten Kapseldiplobacillen (*Diplobacillus capsulatus*) zu erwähnen, die für kleine Versuchstiere (Mäuse, Ratten, Meerschweinchen) eine hohe Pathogenität besitzen. Es handelt sich um meist zu zweien gelagerte, mit abgerundeten Enden versehene und von einer breiten Kapsel umgebene Kurzstäbchen, die bisweilen fast Kokkenform zeigen. Die Reinzüchtung gelingt leicht auf den gewöhnlichen Nährböden unter aeroben Verhältnissen. Es entstehen hierbei üppig wachsende, gelbweiße bis grauweiße Kolonien, die zu einem dicken schleimigen Belag konfluieren.

Weitere Veröffentlichungen stehen noch aus.

## Elgene Untersuchungen.

### I.

Im Frühjahr 1911 bot sich Gelegenheit, in je einem Schafbestande der Kreise Strasburg, Dirschau und Berent (in der Provinz Westpreußen) ein seuchenhaftes Sterben unter Schafen und Lämmern zu beobachten, bei dem zuweilen der Befund dem der Septicaemia haemorrhagica ovium (Miessner und Schern) glich. Es fanden sich aber als Erreger nicht bipolare Bakterien, sondern Diplokokken.

In den 2 Fällen Strasburg und Dirschau konnten wir die Mikroorganismen in den Organen sämtlicher eingesandter Tiere bereits mikroskopisch ermitteln, während in dem Bestande Berent ihr Nachweis erst durch Tierversuch gelang. Nach dem klinischen Bilde und dem pathologisch-anatomischen Befunde handelte es sich wahrscheinlich um 2 verschiedenartige Seuchen, welche Ansicht durch die weiteren Untersuchungen, insbesondere durch die Bakterienbefunde bestätigt wurde. In den Fällen I (Strasburg, Dirschau) fanden sich kapsellose, stets kugelförmige, ziemlich kleine Diplokokken, die in ihrer Gramfestigkeit schwankten. Im Falle II (Berent) wurden große, mehr lanzettförmige, mit Kapsel versehene Diplokokken nachgewiesen.

Im folgenden sind zunächst die Ergebnisse unserer Untersuchungen in den Beständen Strasburg und Dirschau (Teil I) zusammengestellt.

Da wir außer den gefundenen Mikroorganismen keine Verdachtsmomente für eine andere Todesursache feststellen konnten, mußten wir die Diplokokken als Erreger der Seuchengänge betrachten. Der wahrscheinliche Zusammenhang zwischen der Erkrankung der Tiere und den gefundenen Mikroorganismen wurde in den beiden gleichartigen Fällen (Strasburg und Dirschau) fast bis zur Gewißheit dadurch, daß wir die betreffenden Erreger bereits im Blute eines erkrankten lebenden Tieres nachweisen konnten.

Der Strasburger Bestand setzte sich aus 150 Mutterschafen und 70 Lämmern zusammen. Zur Zeit der Untersuchung am 24. Februar 1911 waren bereits 20 Mutterschafe und 40 Lämmer verendet. Die noch vorhandenen Tiere waren in einem Stalle untergebracht und trotz guter Fütterung nur mittelmäßig genährt. Einzelne Tiere zeigten offensichtliche Krankheitserscheinungen, waren hinfällig, standen teilnahmslos mit gesenktem Kopfe im Stalle und fraßen wenig oder gar nicht; die Lidbindehäute waren schmutzigrot und geschwollen, aus den Nasenöffnungen floß eine serös-schleimige Masse, welche zum Teil an den Rändern der Nasenöffnungen zu einer grauen Kruste eingetrocknet war. Der Puls war beschleunigt, die Atmung desgleichen und oft mit einem schniebeden Geräusch verbunden; Husten wurde nur wenig gehört. Nach Angabe des Tierarztes und des Besitzers soll bei einzelnen Tieren der vordere Teil des Kopfes angeschwollen gewesen sein, wodurch dieser ein unförmiges Aussehen bekommen habe. Bei einem Tiere konnten wir uns noch von dieser ödemartigen, in dem betreffenden Falle nur geringgradigen Anschwellung der Unterhaut des Kopfes überzeugen. Tiere, die erst wenige Tage krank erschienen, wiesen Temperaturen von 41 bis 41,5° C auf, während bei längere Zeit kränkenden Schafen ein mittelgradiges Fieber bestand. Durchfall wurde nicht beobachtet. Die befallenen Tiere kränkelten meist längere Zeit, erholten sich dann zum Teil wieder; vielfach gingen sie aber im Laufe der zweiten Krankheitswoche ein.

Von mehreren, offenbar kranken Tieren wurde aus der Jugularis unter aseptischen Kautelen Blut entnommen und sofort auf Blutagarplatten bzw. -Röhrchen ausgebreitet. Es gelang, aus dem Blute eines dieser Lämmer die vorher erwähnten Erreger zu züchten.

Bei der Obduktion mehrerer Tiere dieses Bestandes zeigten sich vornehmlich die Brustorgane verändert. In den Brustfellsäcken fand sich eine geringe Menge seröser Flüssigkeit. Das Lungenfell war zum größten Teil mit fibrinösen, schwartenartigen Auflagerungen von etwa 2 mm Dicke bedeckt und stellenweise mit dem Rippenfell verklebt. Der Herzbeutel war ebenfalls mit dem Epicard durch starke fibrinöse Exsudatmassen verbunden, die nach Trennung des Pericards vom Epicard ein netzartiges Aussehen aufwiesen. Die Lungen, besonders in der Nähe des scharfen Randes, fühlten sich derb an. Die Vorderlappen waren meist in ganzer Ausdehnung, von den Hauptlappen in der Regel nur der untere und vordere Teil, luftleer und rot bis graurot hepatisiert. Die Lymphknoten waren stark vergrößert und mittelgradig gerötet. Oft konnten wir auch eine vermehrte Rötung der Schleimhäute der Nase und der Luftröhre beobachten. Die Kehlganglymphknoten waren nur mäßig vergrößert. Die Schleimhaut des Dünndarms ließ in der Regel keine Veränderungen erkennen. Zuweilen bestand vermehrte Rötung: in einem Falle war die Schleimhaut des mittleren Dünndarmteiles in einer Länge von etwa 2 m mittel- bis hochgradig gerötet und dort in einer Ausdehnung von etwa 30 cm mit einem dünnen diphtherischen Belage bedeckt.

In dem zweiten Bestande, in dem Kreise Dirschau, erkrankten nur Lämmer. An den eingesandten Organen wurden ebenfalls nur mehr oder weniger hochgradige, fibrinöse Pleuritis, Pericarditis sowie eine akute Pneumonie festgestellt. Sektionen konnten wir an Ort und Stelle nicht vornehmen, da die Seuche innerhalb weniger Wochen wieder zum Stillstand gekommen war, nachdem etwa 15—20 Tiere verendet waren.

In dem Bestande Berent beschränkte sich das Sterben mehr auf einzelne Tiere, die fast plötzlich verendeten. Dementsprechend war auch der Sektionsbefund ziemlich negativ; außer einem leichten Milztumor konnten besondere krankhafte Veränderungen nicht nachgewiesen werden.

Daß der Nachweis der Diplokokken in diesem Falle erst durch den Tierversuch gelang, wurde bereits oben erwähnt. Zur Vermeidung von Wiederholungen wollen wir die Morphologie und Biologie dieser Mikroorganismen erst im zweiten Teil dieser Arbeit näher erörtern und uns im nachfolgenden auf die Besprechung der beiden anderen Stämme (Strasburg und Dirschau) beschränken.

#### Morphologie und Biologie der Diplokokken Strasburg und Dirschau.

Bei mikroskopischer Untersuchung fanden wir bei sämtlichen untersuchten Tieren beider Bestände die Diplokokken vornehmlich in den Lungen- und Halslymphknoten und den fibrinösen Belägen, weniger in der Milz und den übrigen Organen. Während die Mikroorganismen in den Schaftorganen nur als Diplokokken angetroffen wurden, wiesen die mit Organteilen infizierten Kaninchen neben diesen auch Streptokokkenformen auf, besonders in den Ausstrichen aus Herzblut, dagegen sehr selten in Organausstrichen. Die Ketten setzten sich in der Regel nur aus einer geringen Anzahl (4—6) Gliedern zusammen. Die Kettenformen

fanden sich auch in Kulturen, doch ließ sich hier ein Unterschied zwischen festen und flüssigen Nährböden wahrnehmen. Während in Kulturen, die auf festen Nährböden gewachsen waren, nur sehr spärlich Streptokokken angetroffen werden konnten, überwog in flüssigen Nährsubstraten, wie Bouillon, Serum, Kondenswasser, die Kettenform ganz erheblich. Es war somit erwiesen, daß die Streptokokken und Diplokokken nur Wachstumsformen desselben Mikroorganismus waren, und die Verschiedenheit der Form auf die Beschaffenheit des Nährbodens zurückgeführt werden mußte. Auf festen Nährböden entstand ein dünner grauweißer Belag, der sich aus vielen einzelnen bis stecknadelkopfgroßen Kolonien zusammensetzte, die scharf umrandet waren und niemals konfluieren. Die Bouillon wurde gleichmäßig getrübt, später mit Flocken durchsetzt, die sich schließlich unter Klärung der Bouillon zu Boden setzten. Auf Blutnährböden erzeugten die Mikroorganismen deutliche Hämolyse. Ihre Lebensfähigkeit auf sämtlichen Nährböden war nur von sehr beschränkter Dauer und erstreckte sich auf etwa 8 Tage.

Die Färbung gelang mit allen gebräuchlichen Farben. Bezüglich der Gramfestigkeit bestanden gewisse Unterschiede, je nach der Herkunft der Bakterien aus dem Tierkörper, aus festen oder flüssigen Nährböden. Die Diplokokken waren gramfest, sobald sie in Bouillon oder Kondenswasser gezüchtet waren; ihre Gramfestigkeit ließ dagegen nach, wenn das Material aus dem Tierkörper oder von festen Nährböden herrührte.

Von den kleinen Versuchstieren erwiesen sich Kaninchen und Mäuse sehr empfänglich, weniger Meerschweinchen und Tauben. Am geeignetsten für die Infektionsversuche war das Kaninchen, da dieses meist schon innerhalb 24 Stunden zugrunde ging, während Mäuse nach 2—4 Tagen starben. Waren die Kulturen etwas älter, so veränderte sich auch die Virulenz, und die Kaninchen starben dann erst am 4.—5. Tage. Bei der Obduktion der Kaninchen ergab sich stets das Bild einer ausgesprochenen hämorrhagischen Septikämie. Unter der Innenhaut des Herzens zeigten sich zahlreiche punktförmige Blutungen; auch die Schleimhaut der Luftröhre war mit strichförmigen Blutungen durchsetzt. In der Bauchhöhle fand sich ein serös-blutiges Exsudat in mittlerer Menge, die Milz war stets stark vergrößert und besaß eine eigentümlich feste Konsistenz. Das Blut war lackfarben und schlecht geronnen. Mikroskopisch ließen sich in der Milz und im Blute zahlreiche Diplokokken leicht nachweisen; sie waren im Blute spärlicher und traten dort vornehmlich in Kettenform auf.

#### Künstliche Ansteckungsversuche.

Obwohl wir nicht daran zweifelten, in den ermittelten Mikroorganismen die Erreger der Seuchengänge vor uns zu haben, versuchten wir, den Beweisring dadurch zu schließen, daß wir durch eine der natürlichen möglichst nahekommende Infektion bei empfänglichen Tieren die gleichen klinischen und pathologisch-anatomischen Veränderungen hervorzurufen versuchten. Die Uebertragungsversuche wurden an einem ausgewachsenen Schaf (Lämmer standen uns damals wegen des Herrschens der Maul- und Klauenseuche nicht zur Verfügung) sowie an einem älteren Kalbe vorgenommen, und zwar auf dem Wege der Inhalation. Beide Tiere zeigten keine Reaktionserscheinungen und blieben gesund. Ebenso wenig

gelangen stomachale Infektionsversuche. Subkutane oder gar intravenöse Uebertragungsversuche wurden nicht vorgenommen, da ein derartiger Infektionsmodus spontan selten oder gar nicht vorkommen dürfte.

Es würde verfehlt sein, aus dem negativen Ausfall dieser Versuche einen Rückschluß auf die ätiologische Rolle der Diplokokken bei dem Verlauf der beiden obigen Seuchengänge zu ziehen. Abgesehen davon, daß wir damals keine geeigneten Tiere zu den Versuchen benutzen konnten, und nur auf einzelne, wenig dazu passende Tiere angewiesen waren, wissen wir von den Bedingungen, die zu dem Zustandekommen von Infektionen, namentlich solcher mit Kokken, erforderlich sind, noch viel zu wenig, um aus dem Ausfall derartiger Versuche richtige Schlüsse ziehen zu können.

Man könnte ja einwenden, daß es sich hier um Sekundärinfektion gehandelt habe, wie das von den Brustseuchestreptokokken behauptet und wohl auch allgemein angenommen wird. Dem steht zunächst entgegen, daß wir bei Schafen eine analoge Seuche mit unbekanntem Erreger noch nicht kennen, auf die sich die obige Theorie anwenden ließe. Als dann widerspricht dem auch die Tatsache, daß wir die Mikroorganismen nicht nur in den Lungen und in den veränderten Teilen, sondern jedesmal in dem ganzen Tierkörper jedesmal finden konnten, ja daß wir sie sogar in lebenden Tieren, welche durchaus nicht moribund waren, einwandfrei nachzuweisen vermochten.

#### Immunisierungsversuche an Pferden.

Um künftig derartigen Seuchengängen vorbeugend entgegenzutreten zu können, versuchten wir zunächst ein Schutzserum, und zwar von Pferden, zu gewinnen.

##### a) Fuchshengst No. 851.

Gleichzeitig mit den Immunisierungsversuchen sollte beim Pferde ermittelt werden, wie sich dieses gegenüber der Einspritzung lebender Diplokokken verhielt. Es wurden deswegen zur Ersteinspritzung nicht, wie es wohl gewöhnlich bei solchen Immunisierungsversuchen geschieht, abgetötete Mikroorganismen, sondern lebende Bacillen verwendet. Das Tier erhielt zunächst intravenös  $\frac{1}{4}$  Serumagarkultur, wobei zu bemerken ist, daß die Kultur so spärlich auf dem Nährboden gewachsen war, daß eine ganze Agarkultur kaum viel mehr als den Inhalt einer Oese ausmachte. Am nächsten Tage erhielt dasselbe Tier  $1\frac{1}{2}$  Kulturen, nach weiteren 5 Tagen 6 Kulturen, alsdann wiederum 2mal je 6 Kulturen in Zwischenräumen von 2 Tagen intravenös. Das Pferd vertrug die Injektion im großen und ganzen ohne wesentliche Reaktionen, erst als 14 Tage nach der letztgenannten Injektion wiederum 6 Kulturen eingespritzt wurden, stieg die Temperatur plötzlich hoch an und blieb in der Folgezeit in der Regel über  $39^{\circ}$  stehen. Das Tier magerte zusehends ab, fraß schlecht, wurde hinfällig und verendete am 29. März 1911 26 Tage nach der letzten Injektion. Bei der Obduktion fanden sich eine fibrinöse Pleuritis, Eiterherde von Erbsen- bis Haselnußgröße in den Lungen und ebensolche metastatische Eiterherde in der Milz, Leber und der rechten Niere. In Ausstrichpräparaten aus den Eiterherden und der Milz ließen sich zahlreiche Diplo- und Streptokokken nachweisen. Kaninchen, welche mit dem Eiter infiziert worden waren, starben nach 24 Stunden und zeigten die Kokken in Reinkultur.

Je 5 ccm Serum dieses Tieres, welches am 29. März kurz vor dem Tode entnommen worden war, wurden 3 Kaninchen intravenös injiziert.

3 Tage später erhielten sie  $\frac{1}{10}$  Kultur lebender Diplokokken. Während gleichzeitig infizierte Kontrolltiere schon nach 24 Stunden verendeten, starben diese Tiere erst am 2. bzw. 3. und 4. Tage nach der Infektion. Es mußte demnach dem Serum zweifellos eine gewisse Schutzwirkung zugesprochen werden. Der Tod der Tiere hatte allerdings nicht verhindert werden können. Es ist hierbei aber zu berücksichtigen, daß das Serum von einem moribunden Tiere abgenommen war, das entweder noch nicht über eine genügende Menge von Antikörpern verfügte oder diese in dem wochenlangen Kampfe mit den Bakterien wieder verloren hatte. Auch war zur Infektion eine reichlich hohe Kulturdosis von starker Virulenz dem Kaninchen eingespritzt worden. Wir möchten annehmen, daß bei Verwendung geeigneteren Serums und kleineren Kulturmengen zur Prüfung auf Immunität ein wirksamerer Schutz erzielt worden wäre.

b) Pferd No. 4.

Ein zweites Pferd wurde gleichfalls zu Immunisierungszwecken verwendet; es erhielt anfangs abgetötete, später lebende Kulturen intravenös. Im Gegensatz zu dem ersten Pferde zeigte dieses nach jeder Injektion hohes Fieber, welches mit Unterbrechungen von einigen Tagen wochenlang anhielt und das Versuchstier stark schwächte. Trotzdem infolgedessen mit der Weiterimmunisierung dieses Tieres nur sehr langsam vorgegangen wurde, war es nicht zu verhindern, daß das Tier zusehends abmagerte und schließlich wegen allgemeiner Körperschwäche getötet werden mußte. Der Sektionsbefund entsprach ungefähr dem des Pferdes No. 851.

c) Pferd No. 5.

Das dritte Pferd, das nur mit Bakterienextrakten intravenös behandelt wurde, nahm bald nach den Injektionen ab und ging unter den Erscheinungen der chronischen Kachexie zugrunde. Der Sektionsbefund war negativ.

**Immunisierungsversuche an Kaninchen.**

Im Gegensatz zu obigen Versuchen wollten wir im folgenden der Frage einer aktiven Immunisierung nähertreten.

Die Versuche an Kaninchen sollten zeigen, ob es gelänge, durch Injektionen von steigenden Mengen abgetöteter Kokken diese Tiere gegen eine Infektion mit virulentem Material zu schützen. Es mag ein Fehler gewesen sein, gerade das gegen die Kokken sehr empfängliche Kaninchen zu diesen Versuchen heranzuziehen, doch mußten wir uns dazu entschließen, da wir Schafe, insbesondere Lämmer aus dem oben angeführten Grunde nicht bekommen konnten. Die Immunisierung stieß auch insofern auf Schwierigkeiten, als die Kaninchen nach den Injektionen stark abmagerten, ihnen teilweise auch erlagen. Nachdem uns eine Reihe der Tiere genügend vorbehandelt erschienen, erhielten sie, ebenso einige Kontrolltiere, je  $\frac{1}{10}$  Oese lebender Diplokokken. Es ergab sich, daß die mit Diplokokken vorbehandelten Kaninchen ebenso schnell verendeten wie die Kontrolltiere. Es war mithin nicht gelungen, Kaninchen durch Vorbehandlung mit abgetöteten Diplokokken gegen die Einwirkung virulenter Bakterien zu schützen. Die Versuche wurden daraufhin abgebrochen.



## II.

Nach unseren obigen, im Frühjahr 1911 gemachten Erfahrungen richteten wir im folgenden Winter 1911/12 unser Augenmerk wiederum auf das Vorkommen solcher Kokken. Unsere Bemühungen waren auch nicht vergeblich, da wir verschiedentlich Gelegenheit fanden, Diplo- bzw. Streptokokken teilweise als Erreger seuchenhaft auftretender Krankheiten festzustellen, teilweise zum mindesten den diesbezüglichen Verdacht zu äußern.

Einen Diplokokkenstamm konnten wir durch Infektion von Mäusen mit Material aus einem Läuferschwein züchten. Wer viel Gelegenheit gehabt hat, Schweineorgane mikroskopisch zu untersuchen, wird gefunden haben, daß man in ihnen häufig sehr zahlreiche gramfeste Kokken bzw. Diplokokken nachweisen kann, die mikroskopisch nicht von den Fraenkelschen Pneumokokken zu unterscheiden, aber für Mäuse niemals pathogen sind. Man geht wohl nicht fehl, wenn man derartige Infektionen als sekundär bzw. postmortal bezeichnet, zumal in manchen Fällen außer den Kokken noch Rotlaufstäbchen nachzuweisen sind. Impft man mit solchem Material Mäuse, starben sie regelmäßig erst nach 4—6 Tagen an Rotlauf; wären die Kokken pathogen, müßten die Mäuse nach 2 Tagen eingehen.

Im vorliegenden Falle waren in den Organen des Schweines, das zur Untersuchung auf Rotlauf eingesandt war, lediglich Diplokokken (auch Einzelkokken) nachzuweisen, die sich für Mäuse als sehr pathogen erwiesen. Ueber ihre Biologie wird weiter unten die Rede sein. Da es sich um einen Einzelfall handelte, legten wir der Sache keine große Bedeutung bei. Nachdem jedoch Glässer (7) in seinem Buche mehrere ähnliche Fälle mitgeteilt hat, in denen er Diplokokken als die Ursache von Todesfällen bei Schweinen hinstellt und die Kokken für identisch mit den Fraenkelschen Pneumokokken hält, erscheint es uns durchaus nicht unwahrscheinlich, auch in unserem Falle solche vor uns gehabt zu haben, zumal sie morphologisch und biologisch mit jenen übereinstimmten. Rotlauf war in jenem Falle nicht festzustellen, ebenso waren an den Organen des betreffenden Tieres bemerkenswerte Veränderungen nicht nachzuweisen.

Des weiteren konnten wir 2mal Diplokokken bei Pferden nachweisen, die ohne erkennbare Ursache plötzlich eingegangen waren; es handelte sich um Fohlen. Außer einem leichten Milztumor wiesen die Organe keine krankhaften Veränderungen auf. Mikroskopisch war ebenfalls nichts zu finden. Erst durch Infektion von Mäusen mit Milzmaterial gelang die Züchtung (Näheres über die Bakterien s. unten). Da eine andere Todesursache nicht festgestellt oder vermutet werden konnte, lag es nahe, den Verdacht zu äußern, daß die Tiere, zumal es sich um Fohlen handelte, infolge einer Diplokokkeninfektion zugrunde gegangen waren. Später, nach Abschluß dieser Arbeiten, konnte der eine von uns (K.) bei zwei anderen Fohlen, die aus einem Bestande stammten, dieselben Feststellungen machen. Die Tiere waren in einem Zwischenraum von 2 Monaten gestorben. Der Zerlegungsbefund ergab außer einem geringen Milztumor nichts Krankhaftes. Mikroskopisch waren nur bei dem zweiten Tiere in Milzausstrichen ganz vereinzelt Diplokokken zu finden. Durch Infektion von je 2 Mäusen mit Milzmaterial waren ohne Schwierigkeiten wiederum Diplokokken zu züchten. Mangels anderer Verdachtsmomente mußte auch hier der Tod der beiden Tiere einer Diplokokkeninfektion zugeschrieben werden.

Ferner hatten wir noch Gelegenheit, in 3 Fällen bei Schafen Diplokokken nachzuweisen. In dem ersten Falle (Raddatz) ließen sich die Mikroorganismen nicht direkt in den Organen, sondern erst durch Tierversuch ermitteln. Da krankhafte Veränderungen an den Organen nicht festgestellt werden konnten und eine anderweitige Todesursache nicht ausfindig zu machen war, blieb nur die Annahme einer Infektion seitens genannter Bakterien als Todesursache übrig (Näheres über die Diplokokken s. unten). In dem betreffenden Schafbestande sind nur wenige Schafe plötzlich unter gleichen Erscheinungen gestorben.

Im Gegensatz dazu fielen in den beiden anderen Fällen (Schönau und Bischofswerder) zahlreiche Tiere der Diplokokkenseuche, wenn man sie so nennen darf, zum Opfer. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bestanden, wie in den beiden eingangs (Teil I) geschilderten Fällen (Strasburg und Dirschau) hauptsächlich in einer fibrinösen Pleuritis und Pericarditis sowie einer akuten Pneumonie. Hier konnten wir auch in jedem der aus beiden Beständen eingesandten Tiere bereits mikroskopisch zahlreiche Diplokokken nachweisen. Näheres über deren Biologie s. unten.

Den strikten Beweis, daß die genannten Mikroorganismen die Erreger der Seuchengänge waren, konnten wir in dem Fall Bischofswerder dadurch erbringen, daß es gelang, durch eine Schutzimpfung, die wir am Schlusse ausführlicher besprechen werden, die Seuche sofort zu coupieren. Im Falle Schönau stand uns das Serum noch nicht zur Verfügung.

Schließlich wären noch Diplokokkenbefunde bei Kälbern zu erwähnen; bei diesen konnten wir die Mikroorganismen in 6 Beständen ermitteln. Der Nachweis gelang in 5 Fällen bereits mikroskopisch leicht in allen Organen der Tiere, nur einmal war er erst durch Infektion von Mäusen möglich. Am zahlreichsten fanden sich die Bakterien in den Nieren, Milz und Lungen nebst Lungenlymphknoten, weniger häufig in der Leber. Näheres über die Morphologie und Biologie der Kokken siehe unten.

Die eingesandten Kälber standen meist in einem Alter von 8 bis 14 Tagen, selten hatten sie ein höheres Alter erreicht. Vielfach waren es sehr große und gut genährte Tiere, die teilweise aus Hochzuchten stammten. In einem solchen verseuchten Bestande starb nicht jedes neugeborene Tier, wie man das bei der Kälberruhr vielfach findet, sondern die Todesfälle traten oft in mehr oder weniger großen Zwischenräumen auf. Ueber die Infektionsbedingungen konnten wir nichts Näheres feststellen.

Pathologisch-anatomisch konnte als besonders auffallend in allen Fällen ein fester Milztumor beobachtet werden. Die Pulpa war dabei dunkelrot, die trabekuläre Zeichnung verhältnismäßig gut erhalten. Oft war auch die Darmschleimhaut etwas geschwollen. Die Darm- und Körperlymphknoten waren meist sehr saftreich und gerötet. Unter dem Epi- und Endocard, besonders dem ersteren, wurden scharf umschriebene Blutungen, die bis erbsengroß waren und häufig konfluieren, fast niemals vermißt. Im übrigen zeigte der pathologisch-anatomische Befund nichts Besonderes.

#### Biologie der gefundenen Mikroorganismen.

Nach ihrer Morphologie und Biologie können wir sämtliche von uns aus den angeführten Fällen gezüchteten Stämme in 2 Gruppen trennen: Zu der einen gehören die 4 Schafstämme Strasburg, Dirschau, Schönau

und Bischofswerder. Diese glichen sich hinsichtlich ihrer Gestalt, ihrem tinktoröllen Verhalten, ihrem Wachstum auf den einzelnen Nährböden und ihren sonstigen biologischen Eigenschaften dermaßen, daß wir sie einander für identisch hielten, wofür übrigens auch der jedesmal gleiche pathologisch-anatomische Befund sprach. Da wir die Morphologie dieser Stämme bereits im ersten Teil bei Besprechung der beiden Fälle Strassburg und Dirschau ausführlich erörtert haben, können wir an dieser Stelle auf das dort Gesagte verweisen.

Es bleibt deshalb nur noch die Besprechung der zweiten Gruppe übrig. Zu dieser gehören die beiden Schafstämme Berent und Raddatz sowie die aus dem Schwein, den Pferden und den Kälbern gezüchteten Stämme, die wir ebenfalls alle nach ihrem ganzen Verhalten untereinander für identisch halten müssen.

Die Mikroorganismen, die meist, jedoch nicht immer in Doppelform angetroffen wurden, haben eine lanzettförmige Gestalt und kehren dabei einander die zugespitzten Enden zu. Liegen sie einzeln, so ist die Lanzettform nur sehr undeutlich ausgeprägt und die Einzelkokken erscheinen dann abgerundet. In Organausstrichen sind sie vielfach von einer Hülle umgeben, die besonders bei Färbung mit Karbolfuchsin zutage tritt.

Die Mikroorganismen erscheinen dann sehr groß und plump. Erst bei genauerer Beobachtung sieht man, daß es sich um Diplokokken handelt, die von einer anscheinend gemeinschaftlichen Hülle umgeben sind; letztere ist etwas weniger rot gefärbt. Bei Blau- und Gram-Färbung ist von einer solchen Kapsel nichts zu bemerken; bei der letztgenannten Färbung werden die Mikroorganismen auch durch längere Einwirkung des Alkohols nicht entfärbt. Kettenbildung wurde im Tierkörper nicht beobachtet.

Nur auf einzelnen künstlichen Nährböden waren die Diplokokken zu züchten. Brachte man sie aus dem Tierkörper (Herzblut) direkt auf gewöhnlichen Schrägagar, so wuchsen wohl einzelne feine, höchstens stecknadelkopfgroße, grauweiße Kolonien, aber in sehr spärlicher Menge. In der zweiten Generation gediehen sie auf gewöhnlichem Agar überhaupt nicht mehr, das Wachstum in der ersten Generation war deshalb wohl nur darauf zurückzuführen, daß mit der Beimpfung der Röhrchen eine gewisse Menge Blut mitausgestrichen wurde. Auf Blut- und Serumagar ließen sich dagegen die Bakterien verhältnismäßig gut weiterzüchten, wenn auch das Wachstum nie ein besonders üppiges genannt werden konnte. Es bildeten sich kleine grauweiße Kolonien von höchstens Stecknadelkopfgroße, die keine Tendenz zum Konfluieren zeigten. Obwohl Hämolyse nie beobachtet wurde, war das Wachstum auf Blutagar ein wenig üppiger als auf Serumagar. In Zucker- und Serumbouillon sowie auf Zuckeragar wurde niemals Wachstum beobachtet; dagegen gediehen sie, wohl infolge des Nitrosegehaltes, auf der Blauplatte nach v. Drigalski-Conradi. Auf diesem elektiven Nährboden waren sie deshalb aus Kälbern auch direkt zu züchten.

Von kleinen Versuchstieren erwiesen sich besonders weiße Mäuse empfänglich, die nach Infektion sowohl mit Material aus den Organen als auch mit sehr kleinen Kulturmengen stets nach 1—2 Tagen starben. Kaninchen erlagen einer Infektion mit Kultur fast stets, dagegen überstanden sie häufig eine solche mit Organmaterial. Charakteristisch für solche, einer Diplokokkeninfektion erlegenen Kaninchen

war der Befund an der Milz. Diese war immer stark vergrößert und von einer eigentümlich festen Konsistenz, wie sie auch stets bei den Kälbern beobachtet werden konnte. Unsere Absicht, diese Diplokokkenstämme der Gruppe II mit dem Fraenkelschen *Diplococcus lanceolatus* eingehend vergleichend zu prüfen, konnten wir nicht ausführen, da diese Arbeiten aus äußeren Gründen abgebrochen werden mußten. Balzer nimmt auf Grund des gleichartigen Ausfalls der Agglutinations- und Komplementbindungsreaktion bei Verwendung eines Diplokokken- und Pneumokokkenstammes an, daß beide Bakterien identisch sind.

Nach den neueren vergleichenden Untersuchungen von Christiansen mit dem *Diplococcus lanceolatus* Fraenkel hat sich morphologisch und kulturell wie im Verhalten gallensauren Salzen gegenüber weitgehendste Uebereinstimmung ergeben. Die Agglutination ergab ungleichmäßige Resultate insofern als ein Diplokokkenserum mehrere Diplokokkenstämme agglutinierte, dagegen einen Diplokokkenstamm und 3 Pneumokokkenstämme nicht. Die wechselseitige Immunisierung mit Pneumokokken- bzw. Diplokokkenserum gelang nicht, während das Diplokokkenserum imstande war, gegen Infektionen mit der Mehrzahl der Diplokokkenstämme zu schützen. Christiansen folgert hieraus, daß die Kälberdiplokokken und Pneumokokken voneinander verschieden sind, wenn sie sich auch sehr nahe stehen.

#### Immunisierungsversuche.

Trotz der schlechten Erfahrungen, die wir im Jahre vorher bei der Immunisierung von Pferden mit den Diplokokken zwecks Serumgewinnung gemacht hatten, waren wir bemüht, ein brauchbares Serum herzustellen, um künftig in gefährdeten Beständen vorbeugend eingreifen zu können. Zur Gewinnung eines Schutzserums wurden 2 Pferde benutzt, die in äußerst vorsichtiger Weise mit abgeschwemmten Blutagarkulturen in der unten angegebenen Weise behandelt wurden. Dabei wurde vorwiegend von der subkutanen Applikationsmethode Gebrauch gemacht, nachdem die Pferde No. 851, 4 und 5 sich den intravenösen Injektionen von Diplokokken gegenüber sehr empfindlich gezeigt hatten.

Tabelle 1.  
Pferd 475.

Datum der Einspritzung	Menge und Art des eingespritzten Materials	Herkunft des eingespritzten Materials
2. 12. 11	$\frac{1}{2}$ Kultur abgetöteter Diplokokken subkutan	Schwein
13. 12. 11	1 " " " "	Kalb, Stamm 3807
18. 12. 11	1 " " " "	" " "
5. 1. 12	$\frac{1}{6}$ " lebender " "	" " "
8. 1. 12	$\frac{1}{2}$ " " " "	" " "
15. 1. 12	1 " " " "	" " "
25. 1. 12	1 " " " "	" " "
2. 2. 12	2 Kulturen " " "	" " "
12. 2. 12	$\frac{1}{2}$ Kultur " " "	" " "Schrewe
24. 2. 12	1 " " " "	Schaf " Raddatz
5. 3. 12	1 " " " "	Kalb " Birglau
14. 3. 12	1 " abgetöteter " intravenös	" " 3807
15. 3. 12	$\frac{1}{4}$ " lebender " "	" " "
23. 3. 12	$\frac{1}{3}$ " " " "	" " "
26. 3. 12	2 Kulturen " " "	" " "Schrewe
30. 3. 12	4 " " " "	" " Birglau

Tabelle 2.  
Pferd 476.

Datum der Einspritzung	Menge und Art des eingespritzten Materials	Herkunft des Infektionsmaterials
2. 12. 11	$\frac{1}{2}$ Kultur abgetöteter Diplokokken subkutan	Fohlen, Stamm 3672
13. 12. 11	1 " " " "	Schwein
18. 12. 11	1 " " " "	Kalb, Stamm 3807
5. 1. 12	$\frac{1}{6}$ " lebender " "	" " "
8. 1. 12	$\frac{1}{2}$ " " " "	" " "
15. 1. 12	1 " " " "	" " "
25. 1. 12	1 " " " "	" " "
2. 2. 12	2 Kulturen " " "	" " "
12. 2. 12	$\frac{1}{2}$ Kultur " " "	" " Schrewe
24. 2. 12	1 " " " "	Schaf " Raddatz
5. 3. 12	1 " " " "	Lamm " Schöнау,
		heiße Anschwellung
15. 3. 12	$\frac{3}{4}$ " abgetöteter " intravenös	Kalb, alter Stamm
23. 3. 12	1 " lebender " subkutan	Lamm, Stamm Schöнау,
		heiße Anschwellung
30. 3. 12	3 Kulturen " " "	Lamm, Stamm Schöнау

Wie aus den Tabellen hervorgeht, wurden die verschiedensten Stämme zur Immunisierung verwendet. Die Pferde haben diese verhältnismäßig gut vertragen. Bei dem einen Tier No. 475 bildeten sich an der Injektionsstelle harte Knoten, die nicht höher temperiert waren und allmählich zurückgingen. Eine Temperaturerhöhung trat nur bei der Immunisierung mit dem Stamm Schöнау ein, der, wie oben ausgeführt, zur Gruppe I zu rechnen ist. Leider besaßen wir die ersten Stämme dieser Gruppe damals nicht mehr, sonst hätten wir schon vorher einen dieser Stämme zur Immunisierung benutzt. So konnten wir erst nach Züchtung des Stammes Schöнау damit einsetzen.

Nach Behandlung mit diesem Stamm, mit dem nur das eine Pferd (476) infiziert wurde, traten an der Injektionsstelle heiße, fast faustgroße Schwellungen auf, die nicht abszedierten, sondern allmählich zurückgingen. Nach einer neunmaligen Behandlung mit geringen Dosen, die bis dahin nur subkutan gegeben wurden, entnahmen wir von beiden Pferden am 23. Februar 1912 Blut, um es auf seine Schutzkraft zu prüfen. Zu dem Zwecke wurde je ein Kaninchen mit 3 ccm Serum intravenös behandelt. Nach 4 Tagen erhielten beide Tiere sowie ein Kontrollkaninchen je  $\frac{1}{4}$  Kultur Diplokokken der Gruppe II, da bis dahin nur solche zur Immunisierung der Pferde benutzt waren. Während das Kontrolltier nach 3 Tagen starb, wurde es von dem einen Serumtier um 2, von dem anderen Tier um 6 Tage überlebt. Eine ausreichende Schutzwirkung besaßen die Sera damals also noch nicht. Wir gingen daraufhin dazu über, bei der Immunisierung der Pferde die Diplokokken der II. Gruppe intravenös einzuspritzen, was die Tiere auch gut vertrugen.

Eine Prüfung der Schutzkraft des Serums an Laboratoriumstieren konnten wir nicht mehr vornehmen, doch wurde die Hochwertigkeit des Serums durch die praktischen Erfolge der Schutzimpfung genügend dargetan.

Es gab sich bald Gelegenheit, unsere Diplokokkenantisera praktisch zu erproben. Wir ermittelten mehrere Viehbestände, in denen Kälber ohne nachweisbare Ursache plötzlich starben. Mikroskopisch waren jedesmal Diplokokken nachzuweisen, die zur Gruppe II gehörten. Außer einem leichten Milztumor und Blutungen unter dem Epicard waren

krankhafte Veränderungen nicht zu ermitteln. Da auch kulturell und durch Tierversuch eine andere Todesursache nicht festgestellt werden konnte, stellten wir die Diagnose: „Diplokokkeninfektion“ und empfahlen alle neugeborenen Kälber innerhalb der ersten Woche mit unserem Serum impfen zu lassen. Als sich zwei Besitzer dazu bereit erklärten, wurde diese Maßregel eine Zeitlang befolgt. Die Impfungen wurden durch Tierärzte ausgeführt; jedes Tier erhielt 10 ccm Serum intravenös. Das Serum stammte von Pferd No. 475, das nur mit gleichartigen Kokken vorbehandelt war. Spätere Nachfragen ergaben das erfreuliche Resultat, daß seitdem kein Kalb mehr gefallen war.

Einen durchschlagenden Erfolg konnten wir auch in einem Schafbestande erzielen, in dem eine Infektion mit Diplokokken der Gruppe I zahlreiche Tiere, Schafe und Lämmer binnen kurzer Zeit dahingerafft hatte, nämlich in dem bereits oben beschriebenen Fall Bischofswerder. Hier waren in einer Herde von etwa 600 Schafen täglich 30—40 Tiere gestorben. Es wurden zunächst 6 Schafe probeweise heilgeimpft und 117 schutzgeimpft. Als daraufhin die geimpften Tiere gesund blieben, während unter den nicht geimpften Kontrollen die Seuche sich weiter verbreitete, wurde auch der Restbestand (etwa ebensoviel Tiere) einer Schutzimpfung unterzogen. Danach war die Seuche wie abgeschnitten. Es sei hier ausdrücklich hervorgehoben, daß auch nicht eines der schutzgeimpften Tiere erkrankte. Dagegen hatten die wenigen ausgeführten Heilimpfungen keinen Erfolg, da alle 6 Tiere trotz anfänglicher Besserung eingingen.

Das zu der Schutzimpfung in Bischofswerder verwendete Serum stammte von Pferd No. 476, das anfänglich mit Diplokokken der Gruppe II, später auch mit Stamm Schönau, also mit einem, dem Bischofswerderschen gleichartigen Stamm behandelt worden war. Die Impfung wurde intravenös ausgeführt.

#### Zusammenfassung.

Aus den vorstehenden Untersuchungen geht hervor, daß bei Schafen unter dem Bilde einer Pneumonie und einer fibrinösen Pleuritis und Pericarditis eine durch Diplokokken veranlaßte Seuche vorkommt, die einer Form der von Miessner und Schern beschriebenen und durch bipolare Bakterien erzeugten Septicaemia pluriformis ovium sehr ähnelt. Während die letztere Krankheit vornehmlich bei Lämmern beobachtet wird, tritt die Diplokokkenseuche auch bei Mutterschafen auf. In allen Fällen kann nur der mikroskopische Befund und der daran anschließende Tierversuch Aufschluß über die Art der Erkrankung geben.

Die Erreger werden im Schafkörper nur als Diplokokken beobachtet, wachsen aber bei Versuchstieren, besonders in dem Blute sowie in allen flüssigen künstlichen Nährböden zu kurzgliedrigen Streptokokken aus. Sie zeigen stets, auch als Diplokokken, eine runde Form und sind kleiner als die unten beschriebenen Kokken. Kapselbildung ist nicht beobachtet. Sie gedeihen auf allen traubenzuckerhaltigen Nährböden, sowie Blut- und Serumagar, günstigenfalls auch auf gewöhnlichem Agar. Auf Blutagar erweisen sie sich stark hämolytisch. Sie lassen sich leicht mit allen Anilinfarbstoffen färben; ihre Gramfestigkeit wechselt je nach Her-

kunft aus dem Tier oder künstlichen Nährböden. Von den kleinen Versuchstieren haben sich besonders Mäuse und Kaninchen, weniger Meerschweine und Tauben als empfänglich erwiesen. Nach ihrem Vorkommen und biologischen Verhalten sowie den durch sie hervorgerufenen Veränderungen dürften sie mit den von Wiemann beschriebenen identisch sein.

Außer diesen Mikroorganismen, die nur bei Schafen beobachtet wurden, kommen anscheinend bei fast allen wichtigen Haustieren noch andere Diplokokken vor, die weniger seuchenhafte als spontane plötzliche Todesfälle, besonders bei Jungvieh, verursachen. Außer einem festen Milztumor und subepicardialen Blutungen, die besonders bei Kälbern auftreten, konnten besondere pathologisch-anatomische Veränderungen in diesen Fällen nicht nachgewiesen werden.

Die Erreger treten stets, sowohl im Tierkörper wie in Kulturen, als Diplokokken auf und bilden niemals Ketten. Sie sind stets gramfest und werden auch bei längerer Einwirkung des Alkohols nicht entfärbt.

Die Diplokokken scheinen eine Kapsel oder Hülle zu besitzen, die allerdings nicht immer zutage tritt.

Sie gedeihen nur auf Serum oder Blutgagar sowie der Drygalskischen Blauplatte, dagegen nicht in Serumbouillon, Traubenzucker oder gewöhnlichem Agar.

Von kleineren Versuchstieren sind in erster Linie weiße Mäuse und Kaninchen, weniger Meerschweine empfänglich.

Ihren morphologischen und biologischen Eigenschaften nach halten wir die Stämme dieser Gruppe für identisch mit den von Krautstrunk und Balzer beschriebenen. Nach den neueren Untersuchungen von Christiansen ist die Uebereinstimmung mit dem *Diplococcus lanceolatus* Fraenkel in Frage gestellt.

Die von Gärtner beschriebenen Diplokokken dürften zwischen den beiden Gruppen stehen.

Wie die praktischen Erfolge gelehrt haben, ist eine Bekämpfung der durch die beiden Diplokokkenarten verursachten Infektion durch Schutzimpfung möglich; aus materiellen und praktischen Gründen dürfte sich diese besonders bei solchen Seuchengängen empfehlen, die durch die Diplokokken (Streptokokken) der Gruppe I in größeren Schafherden veranlaßt werden.

#### Literatur.

- 1) Krautstrunk, Beitrag zur Aetiologie des seuchenhaften Kälbersterbens. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 7. 1910. p. 256.)
- 2) Gärtner, Ueber eine neue Schafseuche, bedingt durch einen *Diplococcus* (Strept.) *lanceolatus*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. p. 546.)
- 3) Wiemann, Streptokokkeninfektionen bei Schafen. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 9. 1911. p. 233.)
- 4) Balzer, Sepsis beim Kalbe bedingt durch den *Diplococcus* (*Streptococcus*) *lanceolatus*. (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhyg. Bd. 21. 1911. p. 249.)

- 5) Knuth und Sommerfeld, Befund von *Diplococcus lanceolatus* Fraenkel bei einem braunen Bären. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1912. p. 169.)
- 6) Miessner und Schern, Die Septicaemia pluriformis ovium. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 36. 1910.)
- 7) Glässer, Die Krankheiten des Schweines. Hannover (M. u. H. Schaper) 1912.
- 8) Christiansen, Diplokokkeninfektion bei Kälbern und das Verhältnis zum Pneumococcus der Menschen (*Diplococcus lanceolatus* Fraenkel). (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 14. 1913. p. 100.)
- 9) Jensen, C. O., Oversigt over de vigtigste Kalvesygdomme. (Maanedskr. f. Dyr-læger. Bd. 22, zitiert nach Christiansen.)
- 10) Poels, Rapport over de Kalverziekte in Nederland 1899. (Zit. nach Christiansen.)
- 11) Miessner und Lange, Ein pathogenes Bakterium im Fischmehl. (Dtache Tier-ärztl. Wochenschr. 1913. p. 745.)

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchung über die Kala-azar in den östlichen Provinzen Siziliens und Unter-Kalabriens, sowie über die erzielten Resultate.

Von Prof. U. Gabbi, Paolo Lombardo Pellegrino und Giuseppe Montoro.

In der ersten Sitzung der italienischen Gesellschaft für Tropenkrankheiten wurde der von einem unter uns (Gabbi) gestellte Antrag angenommen, den Aerzten jener Ortschaften Unter-Kalabriens und Ost-Siziliens, wo bereits Fälle von Leishmaniose konstatiert worden waren, ein Formular zu übersenden, um die Angaben über die Verbreitung der Krankheit, die Schwere derselben, und die Verhältnisse des Milieus, in welchem sie auftritt, zu sammeln, um auf diese Weise ein annäherndes Maß des durch dieselbe hervorgerufenen individuellen und sozialen Schadens zu erhalten und um nachzuweisen, ob gewisse Behauptungen bezüglich der äußersten Seltenheit der Krankheit und einiger Eigentümlichkeiten des Symptomenkomplexes auf Tatsachen beruhen.

Daß ein organischer Komplex von glaubhaften Antworten bezüglich einer Krankheit, die von uns mit großem Interesse studiert wurde und noch studiert wird, von großem Werte sein muß, bedarf weiter keiner Beweise.

Unsere Bestrebungen mußten nun mehr noch als auf die Vervollkommnung unseres Wissens über das Wesen dieser Krankheit, deren Pathogenese durch die Forschungen William Leishmans und die späteren Bestätigungen durch Laveran und Cathoire (Tunis), Pianese (Italien) und Gabbi (Griechenland) aufgeklärt worden ist, auf die Kenntnis ihrer Verbreitung gerichtet sein.

Die Zahlen, die uns die Antworten der Aerzte geliefert haben, sind von großer Einstimmigkeit, Genauigkeit und Vorsicht und deshalb wirklich des Vertrauens und der Sympathie wert.

Der von Gabbi, Feletti und Mattei entworfene Fragebogen enthielt folgende, an die Aerzte der Städte und der Provinzen Messina, Catania, Reggio-Calabria, Catanzaro gerichtete Fragen:

- I. Haben Sie in ihrer Praxis Fälle von Kala-azar beobachtet?
- II. Wenn ja, bei Kindern, jungen Leuten oder Erwachsenen?
- III. Wie haben Sie die Diagnose gestellt, auf Grund des klinischen Bildes oder mittels der Splenopunktion?
- IV. Wieviel Fälle haben Sie insgesamt seit 1908 bis heute, und wieviel pro Jahr beobachtet?



- V. Haben Sie mehr als einen Fall in ein und derselben Familie beobachtet?  
Wenn ja, haben Sie dieselben gleichzeitig oder in Zwischenräumen gesehen?
- VI. In welcher Jahreszeit haben Sie die Fälle beobachtet?
- VII. Welchen Verlauf wiesen sie auf? Akut oder chronisch?
- VIII. Welche Komplikationen stellten Sie fest, besonders im Verdauungs- und Respirationsapparate?
- IX. Welches war die Ursache des Todes?
- X. Haben Sie Noma beobachtet?
- XI. Welche Symptome herrschten im Krankheitsbilde vor?
- XII. Welche Arzneimittel und mit welchem Erfolge wurden angewandt?
- XIII. Welcher Klasse der Bevölkerung gehörten die Kranken an?
- XIV. Wurde für die Hygiene des Hauses gesorgt?
- XV. Wurde für die Hygiene in der Ortschaft, dem Dorfe, dem Stadtbezirke oder -viertel gesorgt?
- XVI. Befanden sich Hunde in den befallenen Familien?
- XVII. Wurden gleichzeitig mit den befallenen Kindern andere Kranke beobachtet?  
In den benachbarten Familien?
- XVIII. Befanden sich in Ihrem Wirkungskreise viele herumirrende Hunde?
- XIX. Tritt die Orientbeule auf?
- XX. Kommt Malaria vor? Gibt es Stechmücken?
- XXI. Ist die Auswanderungsbewegung stark?

Nach diesem ersten Fragebogen wurde ein zweiter ausgesandt, um besonders über die Gewohnheiten der Hunde in den Familien und den Verkehr mit den Kindern Aufklärung zu erlangen; doch hat leider fast keiner der Aerzte diese Frage beantwortet.

Der Fragebogen zielte darauf hin, die Frequenz und die Verbreitung der Krankheit, die im klinischen Bilde vorherrschenden Symptome, die Komplikationen, den Verlauf und die eingeschlagene Therapie festzustellen; ferner in welcher Jahreszeit die Krankheit besonders auftritt, welche Klasse der Bevölkerung hauptsächlich befallen wird, wie die hygienischen Verhältnisse der Häuser der Betroffenen und der entsprechenden bewohnten Zentren sind; welcher Verkehr zwischen Hunden und den kranken Kindern besteht, und ob in den Ortschaften und Städten, wo die Fälle beobachtet wurden, auch die Orientbeule und die Malaria (und die Stechmücken) herrschten, ob die Auswanderungsbewegung stark war oder nicht (wegen vermuteter Einschleppung der Krankheit).

Von 28 Kollegen, die in Zentren wohnen, in denen die Leishmaniose von Gabbi, Feletti, Di Mattei, Longo, Lacava, Spagnolio, Di Cristina und anderen angetroffen worden ist, und in denen die Beobachtungen vom klinischen und epidemiologischen Standpunkte aus seit 1909 mit der größten Genauigkeit durchgeführt worden sind, haben wir diesbezügliche Antworten erhalten. Es handelt sich um Gemeindeärzte und frei praktizierende, die kaum den Symptomenkomplex kennen, und die sich bei der Antwort die größte Mühe gaben. Da, wo ihre Ueberzeugung nicht fest war, haben sie ihre Zweifel angegeben oder die Antwort ganz unterlassen; sie haben folglich nur mit Sicherheit Auskunft gegeben, wo sie es konnten. Wo der Fall zu weit zurück lag, oder die Beobachtung nur eine oberflächliche war, haben sie diesen Umstand klar hervorgehoben. Es handelt sich hier um eine statistische Arbeit, die alle dieser Art von Arbeiten innewohnenden Vorteile und Nachteile besitzt. Wenn es sich darum handelt, Erinnerungen ins Gedächtnis zurückzurufen, oder Angaben, die flüchtig ins Notizbuch eingetragen wurden, zu deuten (wie dies die Gewohnheit vieler von denen ist, die uns höflicherweise eine Antwort zukommen ließen), so hat natürlich die Mitteilung, einzeln genommen, nur einen sehr geringen Wert; der Wert ist aber ein bedeutender, wenn sie mehreren und reinen

Quellen entspringt und übereinstimmend mit anderen ist. Von Wichtigkeit ist dabei die Tatsache, daß ein großer Teil der Aerzte, die den Fragebogen beantwortet haben, im Besitze eines Mikroskopes ist (Lacava, Bucarelli, Timpano, Sergi, Balsamo, Stilo, Vadata, Varanda, Occhipinti, Pugliatti, Cacopardo, Di Dino, Sfameni, Giarratana). Mehr als einer von ihnen war Assistent (wirklicher oder Volontär) eines Universitätslehrstuhles, so Castromarone, Caracoci, Signer, Cacopardo, Faranda, Pugliatti, Muscolino, Stilo, Spagnolio, und alle hatten Fortbildungskurse in der medizinischen Klinik und in der Hygiene durchgemacht, auch sind fast alle im Besitze des Diplomes eines Sanitätsbeamten.

Wenn man auf unserem Zirkular die Frage sieht, ob der Arzt die Diagnose mittels des klinischen Bildes oder der Splenopunktur aufgestellt hat, so beweist das, daß wir sicher waren, daß sie aus den Vorlesungen von Antonio Cardarelli und Francesco Fedes jene „anaemia splenica infectiva infantum“ kannten, die unter den verschiedenen Arten von Fieber der Kala-azar entspricht. Alle hatten in den letzten 3 Jahren Fälle wahrgenommen, die jenem typischen Symptomenkomplex entsprachen, und zwar mit dem positiven Befunde der Splenopunktur. Der Symptomenkomplex führte sie zur Diagnose, welche an und für sich schon stichhaltig war, die es aber noch weit mehr sein konnte infolge der mit Zustimmung der Familie der Patienten vorgenommenen Splenopunktur.

Wir konnten daher sicher sein, ein sicheres und schätzbares wissenschaftliches Werk durchzuführen.

Die Städte, die Dörfer oder anderen Ortschaften, in denen die Beobachtungen gesammelt sind, liegen fast alle am Ufer des Meeres oder in der Nähe desselben. Von denen, die etwas entfernt und etwas höher über dem Meeresspiegel liegen, erwähnen wir: Saponara (170 m), Mirto (400 m), Caronia (300 m), Furnari (150 m), Alcara Li Fusi (400 m). Wir wollen hier noch hervorheben, daß wir die Zirkulare den Aerzten in den höher gelegenen Ortschaften dieser Provinzen nicht zugesandt haben, da bisher noch niemals Fälle angegeben worden sind, obwohl vor einiger Zeit einer von uns (Gabbi), die Kollegen und seine Schüler daselbst durch Privatbriefe für die Sache interessiert hatte<sup>1)</sup>.

Im Küstenklima Siziliens und Kalabriens ist bekanntlich der Sommer sehr warm und der Winter mild, und Südwinde herrschen hier vor. Der Scirocco (Südostwind) tritt hier häufig auf.

Regenfälle treten im Oktober und November auf und gehen gewöhnlich im April und Mai zu Ende; absolute Trockenperioden von 90–120–150 Tagen können dann auftreten.

Wir haben einige Kollegen befragt, ob und welchen Einfluß der strenge Winter 1910–11 auf die Häufigkeit der Kala-azar-Fälle im Jahre 1911 gehabt hat, und Jemma und Longo haben feststellen können, daß in jenem Jahre die Zahl derselben geringer war als im Jahre 1912.

Was die Jahreszeit anbelangt, in der die Kollegen die Fälle beobachtet haben, so ist zu bemerken, daß 8 unter ihnen einzig und allein das Frühjahr, 3 hauptsächlich das Frühjahr, 2 das Frühjahr und den Sommer, 3 das Frühjahr und den Herbst angeben, aber stets unter be-

1) Jemma fand Exemplare in Castelbuono (527 m über dem Meere), Partanna, Salemi, Castelvetro, Favara, Marineo, Carini, d. h. in Ortschaften, die vom Meere entfernt liegen; Longo einen Fall in Paternò (Catania).

deutendem Vorherrschen des Frühljahrs; 6 geben einzig und allein den Sommer an, und 3 den Winter; 1 alle 4 Jahreszeiten; 2 antworteten gar nicht. Wir bemerken hier, daß die, welche das Frühjahr als einzige Jahreszeit angaben, in der die Fälle beobachtet wurden, die Diagnose nicht nur auf Grund des klinischen Bildes, sondern auch der Splenopunktur gestellt hatten (Giarratana, Pugliatti, Micciancio, La Rosa, Spagnolio, Timpano, Gatto, Lacava), ebenso die, welche das Frühjahr und den Sommer, und jene, die das Frühjahr und den Herbst angaben (Coniglio, Muscolino, Bianco). Von denen, die ausschließlich den Sommer angaben (Stilo, De Caridi, Mirto, Sindoni), hatte nur einer (Stilo) die Leishmania-Natur der Krankheit mittels der Puncture bestätigt. Von denen, die ausschließlich den Winter als günstige Jahreszeit angaben (Vadalà, Di Mattei, Bianco) hat nur einer die Splenopunktur mit positivem Resultate vorgenommen (Di Mattei)<sup>1)</sup>. Diese Angaben scheinen deutlich zu bestätigen, was schon 1910 einer von uns (Gabbi) behauptete, daß die Krankheit vorwiegend im Frühjahr auftritt. Wie aus den in der letzter Zeit in verschiedenen neuen Fällen (24) von Spagnolio durchgeführten Studien hervorgeht, beginnt die Krankheit in den Monaten März, April und besonders im Mai. Dies ist von Wichtigkeit bezüglich der Indikation der eventuellen Parasiten, Träger des Kala-azar-Virus. Wenn die Fälle im Monat Mai besonders auftreten, so ist es klar, falls die Inkubationsdauer im Durchschnitt 50—60 Tage beträgt, daß die Inokulation besonders im Februar und März stattfinden muß. Während bisher in Italien von Insekten Floh und Stechmücke als Ueberträger des Kala-azar-Virus betrachtet wurden, so dürfen jetzt dieselben schwerlich als solche angesehen werden, denn während die Stechmücken und die Flöhe am meisten stechen, nämlich im Juni, Juli, August und September, treten die Fälle doch nicht häufig mitten im Sommer und im Herbst auf, während doch die Inokulation des Virus mit größerer Häufigkeit da stattfinden müßte. Keiner der befragten Aerzte hat aber angegeben, nur im Herbst oder hauptsächlich in dieser Jahreszeit die Inokulation gesehen zu haben. Diese neuen, wohlbegründeten Tatsachen sprechen dagegen, daß die Flöhe und die Stechmücken die einzigen Ueberträger des Kala-azar-Virus sind.

Hier ist es angebracht, die Antworten auf die Frage zu erwägen, ob in den Häusern, in denen die Kollegen an Leishmaniose Leidende gefunden haben, auch Hunde anzutreffen waren, und ob dieselben gesund oder krank waren.

7 Kollegen haben berichtet, daß in den betroffenen Familien keine Hunde existierten; 10, daß in einigen Familien Hunde gehalten wurden, in anderen nicht; 9 meldeten, daß sich in sämtlichen Familien Hunde vorfanden. Die Antwort eines Kollegen lautete, daß in der Mehrzahl der Familien keine Hunde seien, und 2 Kollegen antworteten gar nicht. Auf die andere, mit der vorhergehenden verbundene Frage, ob sie in dem Hause, in dem sie ihre Fälle beobachteten, gleichzeitig kranke

1) Jemma schließt aus dem Studium von 66 Fällen, daß sich die Krankheit bei uns vorwiegend im Anfange des Frühljahrs oder am Ende des Winters entwickelt. Pulvirenti fand unter 20 Fällen die größte Anzahl derselben während der ersten 6 Monate des Jahres (15), und von diesen 4 im März, 4 im April, 2 im Mai und 2 im Juni; die anderen 5 in den übrigen Monaten, und zwar 1 im Juli, 2 im September, 1 im November, 1 im Dezember. Auch diese Resultate decken sich mit jenen der Umfrage.

Hunde angetroffen hätten, kam eine bejahende Antwort nur von 1 Kollegen, und zwar von Dr. Lacava, der (gemeinsam mit Basile und Visentini) den Hund von Leishmaniose befallen gefunden hatte. Kein anderer behauptete, dieses Zusammentreffen beobachtet zu haben. Die Hunde, schreiben sie, waren gesund. Es ist wohl wahr, daß man in der letzten Zeit von Hunden als von chronischen Trägern des Virus redet; doch ist dies eine Behauptung, die noch nicht auf eine bedeutende Anzahl von Fällen gestützt ist. Bedenkt man nun, daß chronische Träger des Virus aus der Klasse der Protozoen (Leishmaniose, Syphilis, Trypanosomiasis, Recurrens) beim Menschen ohne Läsionen noch nicht beschrieben worden sind, so darf man mit Recht zweifeln, daß diese Annahme noch der wissenschaftlichen Grundlage ermangelt, und daß man nicht auf eine große praktische Bedeutung derselben schließen kann.

Die in unserem Fragebogen gesammelten Angaben bestätigen nun vollständig einige von Spagnolio gemachte Beobachtungen. Dieser hat in 21 neuen, vom November 1912 bis zum März 1913 veröffentlichten Fällen in Vereinigung mit einigen anderen Aerzten (Miuiancio, Giarratana, Pugliatti, La Rosa, Romeo) nach dieser Richtung genaue Untersuchungen angestellt, ob sich in den Familien der befallenen Kinder oder in den Nachbarhäusern kranke Hunde befanden. Seine Forschungen waren jedoch erfolglos, obgleich der beim Hunde auftretende Symptomenkomplex (Tremor, Parese oder Paralyse des Hinterviertels, Appetitlosigkeit, Abmagerung und Fieber) ein recht auffälliger ist.

In Bordonaro wurden freilich 2 von Leishmaniose befallene Hunde angetroffen, aber Spagnolio und Micciancio (die aber nicht der Autopsie der Hunde beiwohnen konnten) behaupten, daß dieselben nicht in den an Leishmaniose leidenden Familien vorgefunden worden, noch mit solchen in Berührung gekommen sind. In solchen Fällen fragten wir, um Klarheit zu schaffen, noch an, ob der Hund häufig mit kleinen Kindern in Berührung kommt und ob Hunde und Kinder in demselben Bette schlafen.

Nur 4 Kollegen ließen uns über diesen Punkt eine Antwort zukommen, wonach zwar schon etwas größere Kinder mit Hunden spielen, doch sehe man nur ausnahmsweise die Hunde in den Betten, anstatt auf ihren Lagern; ja selbst der Landarbeiter vermeide jede Berührung mit schmutzigen und kranken Hunden; besonders wenn sie, wie die von Leishmaniose Befallenen, Abmagerung und Haarausfall aufweisen, welche Zeichen nach Basile und Yakimoff die chronische Form der Krankheit bei den Hunden bekunde. Aus den erhaltenen Antworten kann man schließen, daß überhaupt zwischen dem kranken Hunde und dem kranken Kinde kein Abhängigkeitsverhältnis besteht, denn unter mehr als 150 erkrankten Kindern ist nur einmal ein gleichzeitiges Bestehen der Krankheit festgestellt worden, was bekanntlich bisher nicht einmal in Catania beobachtet worden ist, wo die Krankheit so verbreitet ist. Hingegen erfreuen sich in dem Hause, in welchem ein an Leishmaniose erkrankter Hund sich befand, 2 dort lebende Kinder der besten Gesundheit; desgleichen 12 in den Nachbarhäusern lebende, die mit dem an Leishmaniose befallenen Hunde täglich in Berührung kamen. Neuerdings hat Cristina, wie er uns freundlichst mitteilte, lange Zeit nach einem ersten Falle, einen neuen auftreten sehen, und zwar in einer Familie, die in der Befürchtung, daß der Hund durch Flöhe der Vermittler der Krankheit gewesen sei, denselben schon seit langer Zeit abgeschafft hatte.

Angesichts dieser Tatsache hat man bereits die Hypothese von der natürlichen Immunität der Kinder aufgestellt und gesagt, daß in den Familien, in welchen die Hunde von der Leishmaniose befallen waren, nicht aber die Kinder, letztere diese Immunität aufwiesen. Wenn sich nun dies in der größten Mehrzahl der Fälle bewahrheitet, so ist die einzige logische Schlußfolgerung, die man daraus ziehen kann, nicht das Fehlen der Immunität, sondern die wirkliche Abhängigkeit der menschlichen Erkrankung von jener des Hundes. Kaum wird übrigens ein krankes Kind entdeckt, so forscht man sofort nach, ob der betreffende Hund befallen ist; findet man dies, so wird die Sache an die große Glocke gehängt, und man muß sich wundern, daß man dem, was eigentlich eine Ausnahme darstellt, eine so große Bedeutung zuschreibt, denn seit wann legt man mehr Gewicht auf eine Ausnahme als auf die Regel?

Von wirklich großer Bedeutung ist die einstimmige, von allen Kollegen gegebene Antwort bezüglich der herrenlosen, sowohl in den Städten als auch auf dem Lande herumirrenden Hunde. Sie sind nicht nur vorhanden, sondern mehr als ein Arzt hat behauptet, daß sie sogar zahlreich sind. Doch geht aus den Antworten nicht hervor, daß sie zahlreicher sind in den Zentren, in denen die Krankheit wütet, wie z. B. in Catania. Hier sind die herrenlosen Hunde wenig zahlreich (Di Mattei), die Krankheit aber ist sehr verbreitet, ebenso in Messina. Wären die herrenlosen Hunde die Träger und Verbreiter des Virus in diesen Zentren, so müßten dieselben in großer Anzahl vorhanden sein, was aber nicht der Fall ist, wie aus den Beobachtungen von Pulvirenti und Pantò hervorgeht. Es ist noch zu erwähnen, daß sich herrenlose Hunde nicht einmal in den kleinen, stark infizierten Zentren, wie Bordonaro, Camaro und Galati, zahlreich vorfinden, die sich von den Häusern nur aus Hunger oder infolge geschlechtlicher Reize entfernen, doch bald, oder noch während der Nacht zurückkehren.

Wir hatten diese Frage an die Kollegen gerichtet auf Grund der Tatsache, daß man gerade den herrenlosen Hunden, d. h. denen, die nur in geringer und flüchtiger Berührung mit den Kindern stehen, eine so große Rolle in der Genese der Krankheit zugewiesen hat, obgleich man in Tunis nie einen Hund und ein Kind gleichzeitig infiziert gefunden hatte, und daß man trotzdem glaubte, in Fällen, in denen in den Familien keine Hunde vorhanden waren, seine Zuflucht zu denen der Nachbarhäuser nehmen zu müssen, wie wir bereits weiter oben erwähnt haben.

Zu den Antworten auf die Frage: „Wie viel Fälle wurden in diesen letzten 4 Jahren beobachtet?“ ist folgendes zu bemerken: die von einigen Kollegen angegebenen Fälle wurden gleichzeitig, oder vorher oder nachher von anderen Aerzten beobachtet, die zu verschiedenen Zeiten dort in Tätigkeit waren. So befanden sich z. B. in Bordonaro als Gemeindeärzte Castronovo, Signer und Micciancio. Folglich entspricht die gesammelte Zahl nicht genau der der beobachteten Fälle, sondern nur annähernd. Immerhin wurden im ganzen 186 Kranke beobachtet; von mehr als der Hälfte derselben kann man mit Sicherheit behaupten, daß die Krankheit durch die Splenopunktur festgestellt worden ist.

Was das Alter anbelangt, so ist die Krankheit bei 2 Erwachsenen (34--38 Jahre) beobachtet worden, und zwar ist bei einem die Natur derselben durch die Milzpunktur bestätigt worden; bei 4 trat die Krankheit im jugendlichen Alter (Zagarella, Orlando und Lacava) auf; bei 2 von diesen wurde die Diagnose durch die Milzpunktur bestätigt.

Bei 2 wurde die Krankheit in den späteren Kinderjahren beobachtet (Abate und Timpano) und durch Milzpunktur bestätigt; im übrigen handelt es sich um Kinder, die fast alle im Alter von wenigen Monaten bis 2—3—4 Jahren waren.

Nur wenige Aerzte beantworteten die Frage, wie viele Erkrankte im Durchschnitt pro Jahr beobachtet worden sind. So berichtet Signer, der auch Gemeindefeuerarzt von Bordonaro war (1909—1910), über 15 folgendermaßen verteilte Fälle: 9 im Jahre 1909; 2 1910; 2 1911; 2 1912. Lacava hat im Durchschnitt 5 Fälle jährlich in Bovalino beobachtet. Pugliatti in Contesse 2 im Jahre 1910, 4 1911 und 5 1912; Liuardi durchschnittlich 3 im Jahre; Micciancio jedes Jahr 2—3 im Durchschnitt.

Die häufigsten oder die beständigsten und hervorragendsten Symptome des klinischen Bildes waren folgende: 8 Aerzte heben nur die Splenomegalie hervor; 5 führten als hervortretendes Symptom die Anämie an; 2 Splenomegalie und Fieber; 2 andere Splenomegalie, Fieber und Anämie; 1 Splenohepatomegalie und Fieber; 1 Splenomegalie und Purpura; 2 die Kachexie; 1 Eingeweidebeschwerden; 1 endlich antwortete gar nicht.

Die Beantwortung unserer Frage war nicht ganz leicht, weil dabei eine genaue vergleichende Abschätzung der Symptome an und für sich oder vereint, die den verschiedenen Ursachen entsprechend verschieden sein können, nötig war. Jedoch wurde die Splenomegalie von 25 Aerzten als dasjenige Symptom hervorgehoben, welches entweder allein, oder mit Anämie (die nur für 4 Aerzte, wie bereits erwähnt, das Hauptsymptom dargestellt hatte), oder mit Fieber, oder mit Anämie und Fieber zusammen das klinische Bild beherrschte.

Dieser Befund muß wohl gewürdigt werden, denn unserer Erfahrung nach tritt er zuerst mit dem Fieber im klinischen Bilde auf, kann eine Zeitlang bestehen und sogar bedeutend sein, bevor der anämische Zustand auftritt. Das Auftreten desselben in 90 Proz. der Fälle ist nach der Erfahrung verschiedener Aerzte ein Beweis, daß die Anämie nicht in der ersten, sondern in der zweiten Krankheitsperiode auftritt, nämlich wenn die Splenomegalie, das Fieber und die Darmstörungen (und bisweilen auch die leichte Leberanschwellung) bereits einen bedeutenden Grad erreicht haben. Die ersten Exponenten der Infektion sind Fieber und Milzanschwellung; da nun aber diese letztere auch in den Abnahme- und Ruheperioden fortbesteht, so muß man natürlich annehmen, daß wirklich der Splenomegalie der erste Platz bei der Beurteilung der Symptome zukommt. Die Anämie ist sekundär. Warum soll man sie nun Anaemia infantum nennen, wenn sie sekundär und bisweilen erst spät auftritt?

Es wäre daher wohl an der Zeit, diese Terminologie aufzugeben, die ja nur ein geschichtliches Interesse hat und ohne weiteres die Bezeichnung Leishmaniose anzunehmen. Auf den Fragebögen, auf denen die Kachexie als hervorragendstes Symptom angegeben wurde, war es nicht möglich, eine Beziehung zu dem akuten Verlaufe der Krankheit festzustellen.

Bezüglich des Verlaufes der Krankheit haben die Antworten folgendes Resultat ergeben: 18 Kollegen haben nur einen chronischen Verlauf wahrgenommen; 8 beobachteten sowohl chronischen wie akuten Verlauf (Fälle der letzteren Art waren aber höchst selten); nur 2 Fälle mit akutem und 1 Fall mit besonders akutem Verlaufe. In einem ein-

zigen dieser letzteren Fälle war die Diagnose der Krankheit mittels Splenopunktur (Spagnolio) gestellt worden. Bezüglich der Komplikation wurde folgendes geantwortet:

Von 18 Kollegen wurde Dysenterie angegeben, von 10 Bronchitis und Bronchopneumonien; 3 hoben die Otitis purulenta hervor; 7 gaben Noma an; nur ein Arzt hob als sehr wichtige Extrakte Purpura hervor; mehrere berichteten über häufige Darmstörungen und betrachteten sie als von höchster Bedeutung; nur einer gab Leptomeningitis spinalis an.

Diese Darstellung der Komplikationen verdient unsere größte Aufmerksamkeit.

Die Resultate decken sich mit dem, was bisher von anderen Forschern (Gabbi, Spagnolio, Feletti, Jemma, Longo, Carista u. a.) hervorgehoben worden ist, nämlich daß die in Rede stehenden Komplikationen bereits von allen hervorgehoben worden sind, welche die Krankheit bei uns studiert haben. Denselben sind noch hinzuzufügen die von Franchini und Longo beobachtete Lipuria, die von Scordo, Jemma, Petrone und Lombardo wahrgenommene Nephritis, die von Longo gesehene einfache Stomatitis catarrhalis und die besonders von Jemma und seinen Schülern und neuerdings von Petrone, Dionisi und Lombardo hervorgehobenen Darmgeschwüre.

Alles in allem weist unsere Kala-azar sämtliche Komplikationen der indischen Kala-azar auf, und unseres Erachtens ist es daher kein Wunder, wenn in Indien ein Fall beobachtet wurde mit Darmperforation, denn es liegt ja klar auf der Hand, daß die dieses Ereignis vorbereitende anatomische Läsion nicht fehlt, obwohl der Fall, selbst unter den unsrigen, selten ist. Diese außerordentlich seltene Erscheinung könnte auftreten (auch bei uns), wenn das Gelegenheitsmoment bei einem von Leishmaniose befallenen Kinde mit Darmläsionen auftritt.

Nach Feststellung dieser ersten Tatsache der Identität der Komplikationen müssen wir nun eine negative Tatsache auf dem Gebiete des nervösen Symptomenkomplexes hervorheben: kein Arzt hat Paraplegie oder Paraparese, Tremor, Störungen des Hauttrophismus, Verlust der Eingeweidereflexe, überhaupt Phänomene auf Kosten des Rückenmarkes hervorgehoben. Nur ein Fall von Leptomeningitis spinalis wird erwähnt, und es ist dies der von Lacava, Visentini und Basile illustrierte. Niemand hat das Auftreten von Erscheinungen auf dem Gebiete der Hirn-, Kleinhirn- und der oberen Rückenmarksnerven angegeben. Außer Asthenie und tiefer Apathie, Phänomene, die man als das Produkt einer allgemeinen Intoxikation des Organismus beobachtet, besteht kein Herdsymptom, welches auf eine Vorliebe der Leishmaniose für ein bestimmtes Zentrum oder Bündel des Nervensystems hinweist. In unseren Fällen von Leishmaniose zeigten sich nie Befunde, die auf dem Anatomietische endigten.

Aus den von unseren Aerzten gesammelten klinischen und aus den an hundertten von Fällen von Gabbi, Feletti, Jemma und Longo gemachten Beobachtungen kann man mit Sicherheit schließen, daß das Bild der spontanen oder experimentellen Hunde-Kala-azar einen solchen Parallelismus aufweist, der für die Identität der beiden *Leishmaniae* spricht.

Während im Bilde der *Leishmaniosis humana* die Symptome der Splenomegalie, der Anämie und des Fiebers vorherrschen und häufig Darmkomplikationen sowie die Zeichen tiefer Kachexie auftreten, die sich

auch in Abmagerung ausdrückt, wie auch in der Purpura, finden wir in der spontanen Hundeleishmaniose weder Splenomegalie noch schwere Anämie, schwere Darmerscheinungen oder irgendeine der erwähnten Komplikationen; hingegen beobachtet man in der spontanen Form der Hunde Tremor, Parese des Hinterviertels, Alopecie, und endlich Enderscheinungen des Komas; in der experimentellen können Konvulsionserscheinungen und in vermindertem Grade die der stummen Wut auftreten, was ein neues Differenzierungsmerkmal sein würde, wenn es sich nicht um 2 im Organismus so verschiedene Tiere, wie Menschen und Hund handelte. Nach dem Geschlecht der Befallenen haben wir nicht gefragt, denn da es sich um schon etwas zurückliegende Fälle handelte, war es nicht leicht, eine genaue diesbezügliche Antwort zu erhalten.

Hingegen haben wir Angaben über die soziale Klasse verlangt, welche von der Krankheit am meisten betroffen wird, und wie die hygienischen Verhältnisse in der Familie (Haus), in den Dörfern, Ortschaften, Stadtvierteln sind, in denen die Beobachtungen gemacht wurden, um eine genaue Abgrenzung des Milieus zu haben, in welchem der Keim auftritt und seine Opfer verlangt, und um Anhalt für die Prophylaxe und Klarheit bezüglich der Aetiologie zu erhalten. Die Antworten waren:

6 Aerzte nannten nur die Klasse der Landarbeiter: Dr. Orlando (Patti), Liotta (Alcara Li Fusi), Pino (Saponara Bauso), Vadalà (Furnari), Timpano (Bova-Marina), Manzo (Mirto), 7 Aerzte die Feld- und anderen Arbeiter: Dr. Pugliatti (Contesse), Micciancio (Bordonaro und Camaro), Muscolino (Messina: Stadtviertel Gravitelli ed Arcipeschiere), Occhipinti (Gazzi), 10 gaben auch kleine Besitzer und Kaufleute an: Dr. Signer (Messina), Spagnolio (idem), Balsamo (Siderno mar.), Lacava (Bovalino mar.), Zagarella (Villa S. Giovanni), Ouhipinti (Gazzi), La Rosa und Pugliatti (Contesse), Liuardi (Catania), Muscolino (Messina), Coniglio (Capo d'Orlando), Sindoni (Spadafora), 3, Di Mattei (Catania), Occhipinti (Gazzi), La Rosa (Contesse) haben je nur 1 Fall bei wohlhabenden Personen beobachtet. Einige Kollegen haben bei der Angabe der sozialen Lage der Familie der Kranken geschrieben: Arbeiter, Proletarier und Tagelöhner.

Hier ist zu bemerken, daß:

- 1) in den vom Meere entfernten Ortschaften, in denen sich keine Industrie befindet, nur die Landarbeiter betroffen wurden;
- 2) daß in den Ortschaften, in denen auch Industrie bestand, neben den Landarbeitern auch Fabrikarbeiter befallen wurden;
- 3) daß man in Dörfern in der Nähe der Städte und in der Peripherie der Städte (Messina, Catania) die Krankheit nicht nur unter den Landarbeitern, sondern auch unter anderen beobachtet hat;
- 4) daß man in den Städten (Messina, Catania) einige, obwohl sehr seltene Fälle auch der vornehmen Familien beobachtet hat.

An der Hand der in den Fragebögen gelieferten Angaben kann man natürlich keine Verhältniszahlen der in den verschiedenen Klassen Befallenen aufstellen, sondern nur sagen, daß die arbeitenden Klassen, die Armen, 90 Proz. sämtlicher Fälle liefern, während die kleinen Besitzer nur im Verhältnis von 6—8 Proz., und die wirklich Wohlhabenden nur mit 2 Proz. beteiligt sind.

Diese Resultate gewinnen größeren Wert durch das Ergebnis ausgedehnter Forschungen, welche auf unsere Anregung die Kollegen Jemma und Longo vorgenommen haben:



Unter 92 Fällen fand Jemma:

Landarbeiter	57
Wohlhabende	2
kleine Landbesitzer	10
Fischer	4
Arbeiter	8

Longo und Abate fanden unter 55 Fällen:

Landleute	9
Handwerker (Tischler, Schmiede, Schuhmacher)	8
Krämer	2
Beamte	1

Bei den Ausgrabungen von Solunto:

Angestellte	2
Bahnwärter	2
Krämer	3
Beamte in der Stadt	4

Fischer	1
Tagelöhner	3
Straßenbahnbeamte	1
Gärtner	1
Feuerwehr	1

Aus dieser Statistik der Kollegen Jemma, Longo und Abate ergibt sich deutlich, daß die Landleute und Arbeiter den größten Anteil liefern, und daß gerade die arbeitende Klasse am meisten getroffen wird.

Während die Infektionskrankheiten der Kinder in gleicher Weise oder fast gleicher Weise sämtliche Klassen der Bevölkerung befallen, sucht die Leishmaniose fast ausschließlich ihre Opfer in der Klasse der Arbeiter, der Armen. In dieser also muß sich der Träger der Krankheit befinden und ihr müssen die Gemeinden, die Stadt, die Philanthropen ihre Aufmerksamkeit zuwenden.

Auf die Frage, wie es mit den hygienischen Verhältnissen im Hause, in der Ortschaft oder in der Stadt (resp. dem Stadtviertel) steht, war die Antwort fast einstimmig: Im Hause ist die Hygiene unbekannt, dasselbe gilt von der Ortschaft. Nur einige haben angedeutet, daß in einigen Städten (z. B. in Messina und in Catania) die Hygiene nicht so sehr vernachlässigt sei. Dies ist nun von größter Bedeutung, denn man kann sagen, daß die Gemeinden die Gleichgültigkeit bezüglich der Reinlichkeit begünstigen und folglich auch die Entwicklung der Krankheit unter der ärmeren Klasse, wo es nicht an Läusen, Wanzen, Flöhen, Stechmücken, und mit den Hunden auch an Zecken fehlt. Die Unsauberkeit der Person, im Hause, auf der Straße ist das Milieu, in dem sich der tödlichste aller Parasiten bei uns verbreitet.

Auf die Frage, ob in den Ortschaften, wo Kala-azar herrscht, auch die Malariainfektion vorhanden sei, haben wir folgende Antwort erhalten: Ja, in allen Ortschaften, mit Ausnahme von Milazza (Stadt), Saponara, Villafranca, Villa San Giovanni, Gallico, Scilla und Catania.

Auf die Frage, ob Stechmücken vorhanden sind, blieben mehrere die Antwort schuldig; einige antworteten, daß sie die Anwesenheit derselben annehmen, weil Malaria vorkommt, und nur 2 bestätigten das Vorhandensein derselben auf Grund direkter Beobachtung (Di Mattei, La Cava).

Das gleichzeitige Bestehen der äußeren Leishmaniose wurde von La Cava (Bovalino), Timpano (Bova), Occhipinti, Spagnolio (Messina) und Di Mattei (Catania) bestätigt.

Der Grund, warum wir die Frage nach der Malaria stellten, war der, daß Franchini bei uns die Anopheles (wie auch Stegomyia und Culex) als wahrscheinlichen Träger des Kala-azar-Virus betrachtet. Es steht aber fest, daß in einigen Ortschaften, wo die Kala-azar herrscht, die Malaria fehlt und Anopheles nicht bemerkt werden.

In gleicher Weise wurde die Untersuchung über die Anwesenheit der äußeren Leishmaniose angestellt, um festzustellen, ob ein wirklicher Antagonismus zwischen den beiden Leishmaniosen besteht, wie durch die Tatsache angedeutet worden war, das in Aleppo und in Bagdad, wo die Leishmaniosis externa sehr häufig ist, keine Fälle von Kala-azar vor-

kommen. Die diesbezüglich eingelaufenen Antworten beweisen, daß in fast allen Ortschaften, in denen die Orientbeule angetroffen worden ist, auch Kala-azar zu registrieren war. Welche allgemeine Schlußfolgerungen lassen nun die Resultate unserer Nachforschung zu?

In den östlichen Provinzen Siziliens und Unterkalabriens ist die Leishmaniose in der Mehrzahl der am Meere liegenden Ortschaften (Messina und Reggio-Calabria) verbreitet, und in Catania und Messina ist sie außerordentlich häufig.

In Messina allein sind jedes Jahr im Durchschnitt ungefähr 20 Fälle beobachtet worden. Wie viele wurden aber nicht diagnostiziert oder angemeldet? Wenigstens 10. Im Durchschnitt also 30 im Jahre. Auf die Gesamtbevölkerung der inneren Stadt, ungefähr 80 000, berechnet, würden somit ungefähr 3,7 Prom. kommen. Bedenkt man nun, daß die Geburten sich ungefähr auf 1493 im Jahre belaufen und daß die Krankheit sich hauptsächlich in den ersten 3 Lebensjahren entwickelt, und berücksichtigt man die Sterblichkeit der Kinder, so ergibt sich annähernd, daß 1,49 Proz. befallen sind; da wir eine Kindersterblichkeit von 98 Proz. haben, so ergäbe es sich, daß die Leishmaniose an der Gesamtsterblichkeit in einem ziemlich hohen Verhältnisse beteiligt ist.

Die Dörfer an der Jonischen Küste von Messina: Bordonaro, Villaggio Santo, Camaro, Cateratti, Gazzi, Contesse, Mili, Galati, Giampieri und Briga, wo im Durchschnitt 3—4 Fälle im Jahre beobachtet wurden, ergeben eine Gesamtzahl von ungefähr 27—36 Fällen jährlich, von denen 26—35 sicher tödlich enden. In den anderen Dörfern der Meerenge: Annunziata, Pace, Paradiso, Consolazione, Grotte, Ganzirri, Faro usw. treten einige 20 Fälle auf; es sterben folglich 60—70 Kinder jährlich in Messina von einer Bevölkerung von 128 000 Einwohnern. Für Catania ist die Berechnung nicht genau durchzuführen; aus den von Feletti, Longo, Pulvirenti und Licciardi gesammelten Angaben kann man jedoch schließen, daß jedes Jahr einige 70 Fälle angemeldet werden, während ebensoviele unbekannt bleiben.

Im Durchschnitt starben 100 Kinder im Jahre an der Leishmaniose. In Palermo hat Jemma allein innerhalb 3 Jahren 92 Fälle gesammelt. Es ist jedoch nicht möglich, einen Prozentsatz zu berechnen, da er Fälle von 4 Provinzen in seine Statistik aufgenommen hat; doch ist es möglich, daß wenigstens einige 50 an Leishmaniose starben. Man kann also grosso modo den Schluß ziehen, daß jährlich in diesen 3 Städten wenigstens 200 Kinder sterben, und daß ebenso viele in den Uferortschaften der entsprechenden Provinzen zugrunde gehen. In Siracusa, Trapani, Girgenti und Caltanissetta sind bisher noch keine Nachforschungen angestellt worden. Jemma hat Fälle in den Ortschaften der Provinzen Girgenti (Favara, Palma, Montechiaro), Trapani (Salemi, Castelvetro, Partanna) und Caltanissetta angegeben, aber in bezug auf diese Stadt fehlen Angaben. Diese Lücke muß noch ausgefüllt werden. Sicherlich kommt die Krankheit in Trapani und Girgenti vor, denn die in Tunis aufgetretenen Fälle betrafen zum großen Teile die aus der Provinz und der Stadt Trapani und Girgenti stammenden Kolonisten. Rechnen wir nun mit annähernd 100 Fällen in den Städten und ebensoviel in den Ortschaften an der Küste, so sind es weitere 400 Kinder, die jedes Jahr allein in Sizilien erkranken und sterben.

Was nun Kalabrien (Reggio und Catanzaro) betrifft, so ist die Sache damit ungewisser. Nehmen wir als Grundlage einer annähernden Berechnung Bovalino, wo Dr. La Cava, der mit besonderer Hingebung

und Gewissenhaftigkeit diese Frage studierte, unter einer Bevölkerung von 5000 Seelen, jedes Jahr 4—5 von der Leishmaniose befallene Kinder beobachtete, und berechnet man die Bewohner der Stadt Reggio Calabria und der Küstenortschaften auf 200 000, so haben wir mit dem 1 Prom. von Bovarino ungefähr 200 Kinder, die jedes Jahr sterben. Nehmen wir nun an, daß die Gesamtzahl die Hälfte der oben angegebenen ist, so wird sich die Zahl der Kinder, die erkranken und sterben, auf 100 belaufen. Berechnen wir nun ebensoviel für die Ortschaften der tyrrhenischen und jonischen Küste von Catanzaro (Fälle wurden in Nicotera, Tropea, Monteleone, Parghelia, Soverato und Cotrone beobachtet) und ebensoviel für Lecce und die Küstenortschaften, so sind wir bereits auf 900 angelangt. Fügen wir zu diesen die Fälle von Neapel, Salerno und Caserta (wo die Krankheit verbreitet ist), so können wir sagen, daß, immer annähernd, jedes Jahr 1000 Kinder in den Provinzen Messina, Catania, Palermo, Girgenti, Trapani, Caltamisetta, Reggio Calabria, Catanzaro, Lecce, Neapel, Caserta und Rom an dieser Krankheit zugrunde gehen. In Lecce, Bari und Foggia, Küstenstädten, die wärmer und gleichzeitig nicht weniger unsauber wie Neapel sind, kommen sicher auch Fälle vor. Der für jede einzelne der angeführten Provinzen ausgerechnete Prozentsatz wird sich gewiß noch erhöhen, wenn wir die Provinzialärzte einladen würden, sich mit Eifer dieser Frage anzunehmen, welche nach der Malaria und der Anchylostomiasis in Sizilien und Kalabrien die dringendste ist.

Da schon aus ökonomischen Gründen der Staat die Pflicht hat, die Krankheiten zu bekämpfen, hielten wir das Sammeln der bisher über die Leishmaniose gewonnenen Resultate für recht wertvoll, schon um eine stärkere Ausdehnung der Forschungen zu bewirken. Die Forschungen müssen vor allem in Sizilien und in Kalabrien mehr ausgedehnt werden.

Für das Studium dieser schweren tödlichen Krankheit müssen wir tun, was wir bereits für das Maltafieber getan, das in den Kliniken zu Messina, Palermo und Catania aufs ausgiebigste bezüglich seiner Genese, seines Symptomenkomplexes, seiner geographischen Verbreitung, der Ueberträger der Keime, die es hervorrufen, illustriert wurde.

Hierzu ist der Beistand des Staates und der wohlthätigen Gesellschaften unbedingt notwendig!

*Nachdruck verboten.*

## Le Protozoaire de la Clavelée.

Par le Professeur **F. J. Bosc**, Université de Montpellier.

Avec 2 planches et 3 figures dans le texte.

Dès 1897, dans mon rapport „Des bases de la Prophylaxie“, au Congrès international de Moscou (Section d'Hygiène), j'indiquais la nature protozoairienne du virus de la clavelée (Variole ovine) et j'en signalais les diverses formes évolutives, y compris les petites formes cocciques. Je disais, pages 27 et 28 de ce rapport: „La vaccine, la variole, la clavelée, la syphilis, la malaria, le trachome, le cancer, un grand nombre de dermatoses et probablement la rage, reconnaissent une semblable

origine, de même que toutes les maladies éruptives, rougeole, scarlatine etc. Toutes ces maladies sont produites par des parasites de même race, par des sporozoaires .... Au point de vue de leurs formes évolutives, ces parasites reconnaissent une forme kystique, une forme amiboïde volumineuse et une forme protoplasmique très petite et même une forme coccique. La forme kystique n'évolue que lentement dans l'organisme et est ordinairement localisée; la forme amiboïde et surtout la forme coccique évoluent avec une extrême intensité entraînant une généralisation rapide après un stade local de durée variable."

En 1901, dans mon mémoire "Les Maladies à sporozoaires; la variole, la vaccine, la clavelée, le cancer" (Arch. de Méd. expér. 1901. mai), j'ai étudié plus complètement et figuré, dans des planches en couleur, les diverses formes évolutives du protozoaire de la clavelée dans les cellules épithéliales et, en particulier, de belles formes kystiques de grande taille que j'ai retrouvées à plusieurs reprises mais qui sont rares. J'y décrivais, en même temps, les lésions spécifiques provoquées par ce parasite et montrais qu'elles étaient communes à toutes les maladies que j'avais groupées depuis 1897 sous le nom de Maladies à protozoaires. Je montrais encore dans le mémoire de 1901, que les formes les plus petites, c'est-à-dire les plus virulentes, ne demeuraient pas enfermées dans les cellules du chancre claveleux d'inoculation mais provoquaient la dégénérescence de ces cellules et passaient dans le sang pour réaliser une infection générale. La figure 2 de la Planche XI (Arch. de Méd. expér. 1901) démontrait la présence dans le sang circulant, de formes parasitaires identiques aux formes intracellulaires, mais rares et difficiles à trouver car elles ne font que traverser le courant circulatoire et vont rapidement se fixer dans les cellules de la peau et des organes pour lesquelles elles ont une affinité spéciale.

En 1902, dans deux notes à la Société de Biologie du 1<sup>er</sup> février 1902, p. 114 et 117, je suis revenu sur l'identité des lésions et du parasite de la clavelée avec les lésions et les parasites de la variole, de la vaccine, de la syphilis, du cancer. J'y décris avec plus de précision, les processus de multiplication des formes volumineuses intracellulaires, par divisions directes du karyosome et du Protoplasma ou par divisions karyokinétique, processus qui aboutit à la formation de chromatozoïtes et de formes micrococciques situées à l'extrême limite de la visibilité (formes invisibles).

En 1903, dans un travail paru dans la Presse médicale du 14 janvier: "Les étapes du processus inflammatoires; introduction générale à l'étude des maladies bryocytiques", je résumais ma conception pathogénique et histogénétique des maladies à protozoaires pour lesquelles je proposais le nom de "maladies bryocytiques".

La même année je publiais dans le Centralblatt für Bakteriologie (Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 5, 6 et 7) et dans les Compt. Rend. de la Société de Biologie (17 octobre 1903. p. 1175), le résultat de nouvelles recherches personnelles sur les formes évolutives et la structure du protozoaire de la clavelée. J'insistais tout particulièrement, sur les formes micrococciques et diplococciques, sur les formes amiboïdes à division directe, sur les stades de multiplication karyokinétique qui se font tantôt par une sorte de déroulement du peloton chromatique en chaînette et sa fragmentation, tantôt par reconstitution nucléaire avec production de corps en flammèche extrêmement fins. Dans cette note à la Société de Biologie, je décrivais (Fig. 7) une forme assez volumineuse, en crois-

sant, qui présentait, à chaque extrémité, un amas de fins corpuscules vacuolaires constituant un processus sporulaire identique à celui décrit chez *Halteridium* de l'alouette, — et aussi des formations arrondies ou ovalaires de 7 à 10  $\mu$  de diamètre, à paroi kystique et renfermant un grand nombre de très fins corpuscules vacuolés, véritables sporocystes à microspores identiques à ceux que j'ai décrits dans la variole (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905).

\* \* \*

Après avoir ainsi rappelé quelques unes de mes études antérieures, je voudrai exposer rapidement, dans ce travail, les résultats de mes dernières recherches sur le protozoaire de la clavelée dans les tissus et dans le sang, en particulier ceux qui se rapportent à la structure du parasite, à la détermination des cycles asexués et sexués et à la formation des spores.

**Technique.** A. Recherche dans les cellules fixes. — 1° Coupes: Fixation de petits fragments de pustules cutanées en d'organes (à des moments différents de leur développement) dans la liqueur de Flemming, la Telliesniczki, le sublimé acétique, l'alcool. Coloration de coupes très minces par la safranine ou le rouge de Magenta suivis de picro-indigocarmin, l'hématoxyline ferrique suivie de van Gieson, la méthode de Mann et surtout par la méthode de Giemsa (de durée variable).

2° Raclages cellulaires. — Etalement sur lamelles de très fins raclages cellulaires prélevés sur la surface de coupe de pustules et en couche très mince de façon à n'avoir qu'une seule épaisseur de cellule. Fixations par le Flemming, le sublimé acétique, la Telliesniczki, l'alcool. Colorations par le rouge de Magenta et la safranine ou le picroindigocarmin, l'hématoxyline ferrique-éosine, le triacide d'Ehrlich, la méthode de Mann et surtout par la méthode de Giemsa.

B. Recherche dans le sang. — Etalement du sang prélevé à la veine de l'oreille après avoir rasé et désinfecté la peau reconnue saine ou par ponction d'une grosse veine dénudée et stérilisée à l'alcool et au sublimé. Fixations par la chaleur, l'alcool-éther, l'alcool. Colorations par le Laveran, la thionine, le bleu de Roux, le liquide de Giemsa (10 à 48 heures).

**I. Recherche dans les cellules fixes.** — C'est surtout l'étude des éléments cellulaires provenant de fins raclages de pustules, étalés en couche unicellulaire sur lamelles et colorés par le rouge de Magenta-picroindigocarmin, le Mann et surtout par le Giemsa, qui nous a donné les résultats les plus favorables. Les mieux réussis des très fins étalements colorés par le Giemsa, pendant 24 à 48 heures, sont ceux qui nous ont fourni les figures les plus nettes: c'est en grande partie l'interprétation de ces dernières figures reproduites dans les Planches I et II, qui fait le fond du présent mémoire.

**Cycle asexué.** — 1°. Formes minimales (cocciques et diplococciques). — Elles sont très fréquentes dans les lésions claveleuses surtout au moment qui précède la résolution du chancre. Je les ai signalées dès 1897 et on les trouvera dessinées très exactement dans la Figure 1 de ma note à la Soc. de Biologie du 17 oct. 1903.

Ces formes sont de volume très variable: les plus considérables qui peuvent atteindre 3 et 4  $\mu$ , s'étirent en point d'exclamation; beaucoup ont le volume d'un microcoque et se présentent sous la forme d'un coccus isolé ou d'un diplocoque à grains ronds ou lancéolés; les plus abondantes sont des formes cocciques ou diplococciques d'une petitesse extrême, situées à la limite de la visibilité (corpuscules invisibles) et susceptibles de se présenter parfois sous forme de petites chaînettes de 4 éléments (Fig. 1. Compt. Rend. Soc. Biol. 1903. 17 oct.; et dans ce Mémoire, Figure m, Tableau I).

Ces corpuscules très réfringents, sont colorés en rouge vif par le Mann, en bleu à reflets rouges par le Giemsa, en rouge par la fuchsine acide, c'est-à-dire qu'ils ont les réactions du karyosome. Ils sont entourés par un halo clair et réfringent qui permet de les distinguer plus facilement du protoplasma de la cellule-hôte.

2°. Formes amiboïdes à division directe, par bipartition. — Les formes amiboïdes sont très nombreuses et de taille très variable, depuis 2  $\mu$  de diamètre jusqu'à 30 et 50  $\mu$  (formes plasmodiales). Les formes de 2 à 20  $\mu$  constituées au repos par un protoplasma homogène ou finement réticulé (coloré en rose par le Giemsa) et un karyosome (coloré en violet à reflets rouges par le Giemsa) comme on les trouvera figurées Planche I, Fig. 1 et Tableau I, Fig. a) se divisent par étirement et séparation en deux de leur karyosome (Fig. b et c, Tableau I) et par division en deux, consécutive, du protoplasma, de façon à donner naissance à deux corps amiboïdes nouveaux.

3°. Formes amiboïdes à division centrosomique. — a) Formes petites: A côté des formes précédents on en trouve d'autres, petites ou grandes, à noyau complexe formé par une masse de chromatine arrondie et un karyosome central (Fig. d, Tableau I). A un moment donné, le karyosome se divise en deux parties; puis la chromatine se divise également en deux petites masses ovalaires qui demeurent unies par une extrémité, tandis que les deux karyosomes se portent aux extrémités opposées, pour y jouer le rôle de centrosomes (Fig. 2, Pl. I). Les deux masses de chromatine se séparent complètement, le karyosome de chacune d'elles prend une position centrale, puis le protoplasma se divise, à son tour, par étirement et l'on obtient ainsi deux corps amiboïdes à noyau complexe (Fig. 3, Pl. I).

b) Formes volumineuses. Le même processus a lieu pour des formes amiboïdes de grande taille dont le noyau bien plus gros est formé par une large masse de chromatine, un gros karyosome à centre réfringent (Fig. d, Tableau I) et souvent par une couronne de grains nucléoloidaires (Fig. 4, Pl. I et Fig. e, Tableau I). Ce noyau se divise suivant un processus qui rappelle la division par centronucleus (Fig. 6, Pl. I) et qui aboutit à la formation de deux gros noyaux entre lesquels le protoplasma s'étire (Fig. 7, Pl. I) et se divise. Au lieu de cette division en deux, le karyosome de chacun des deux nouveaux noyaux peut, avant la séparation du protoplasma, présenter une nouvelle division en deux de son karyosome (Fig. 8, Pl. I), d'où formation de 4 noyaux et de quatre parasites, en d'un plus grand nombre (Fig. 9, Pl. I).

4° Division asexuée à mérozoïtes. — a) Par division multiplicative: Dans un parasite amiboïde d'assez grand taille et à gros karyosome central, le karyosome se divise en deux, puis trois (Fig. f, Tableau I) et jusqu'à 6 et 8 parties (Fig. g, Tableau I); le protoplasma se contracte ensuite autour de chacune de ces divisions karyosomiques pour constituer une morula à gros mérozoïtes (Fig. h, Tableau I).

Si la division du karyosome se poursuit encore jusqu'à formation d'un grand nombre de divisions de petite taille (Fig. i et k, Tableau I) on aboutit à la formation de morulas à petits mérozoïtes (Fig. l, Tableau I).

J'avais déjà exactement décrit le processus de multiplication dans les Figures 10 à 14 de ma note à la Soc. de Biologie du 17 octobre 1903 et montré que la division du karyosome pouvait se poursuivre

jusqu'à formation de corpuscules arrondis très petits, situés à la limite de visibilité, colorés en rouge vif par le Mann, en rose violacé par le Giemsa et réunis autour d'un corps résiduel en très grand nombre, sous forme d'un amas qui peut remplir toute la cellule-hôte (Fig. ma, Tableau I et Compt. rend. Soc. Biol. 17 octobre 1903, Fig. 9).

b) Par division intranucléaire d'un noyau composé. La division qui aboutit à des mérozoïtes peut se faire encore aux dépens de formes amiboïdes à noyau complexe. On part d'une forme parasitaire indifférente, à masse chromatique et à karyosome (Fig. 4 et 5, Pl. I; Fig. d et e, Tableau I). Le noyau perd sa membrane, la chromatine s'étale en un amas amiboïde, tandis que le karyosome se divise en 2, 4,

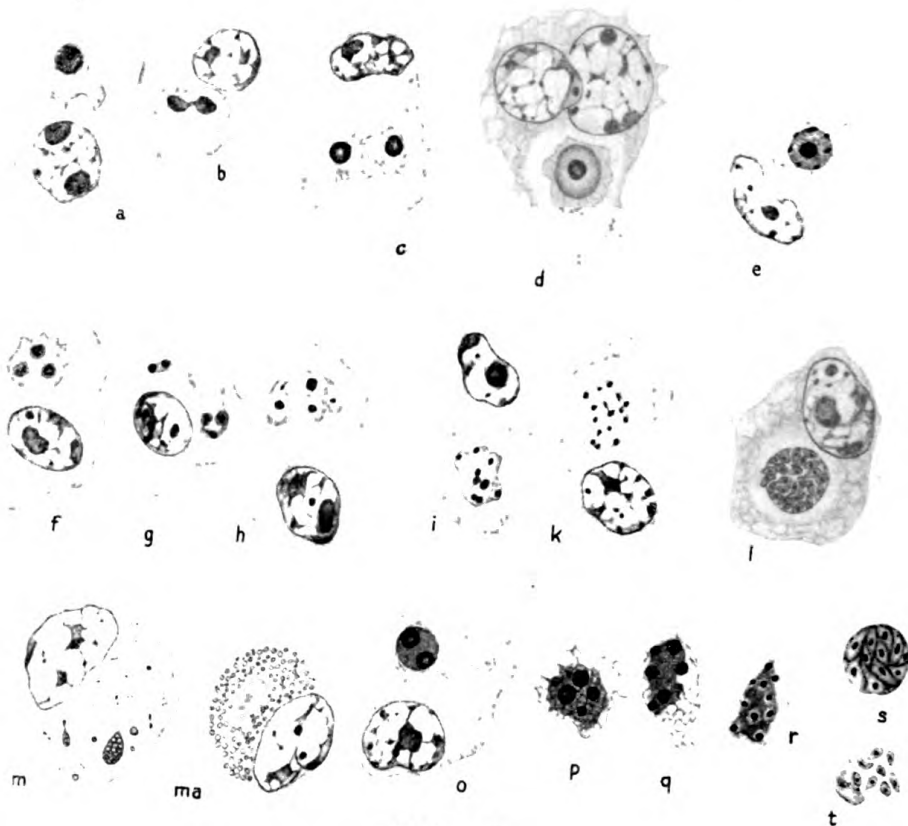


Tableau I.

6 fragments (Fig. o, p, q, Tableau I) ou en un nombre plus considérable. La masse amiboïde de chromatine, colorée en bleu violacé par le Giemsa, envahit presque tout le protoplasma et les divisions du karyosome se distribuent régulièrement à sa surface (Fig. 10, Pl. I et Fig. r, Tableau I). Les noyaux se reconstituent par contraction de la chromatine autour des divisions karyosomiques, puis la contraction du protoplasma autour de les nouveaux noyaux produit une morula à mérozoïtes de taille variable (Fig. 11 et 12, Pl. I; Fig. s et t, Tableau I).

Un processus de multiplication du même type est représenté dans les Fig. b à f du Tableau II, mais ici la division du noyau et la reconstitution nucléaire se produit dans des formations amiboïdes profondément lobulées, avec divisions nucléaires très fines qui peuvent aboutir à des amas corpusculaires à éléments cocciformes.

c) Par division karyokinétique. Cette division se fait suivant une sorte de karyokinèse qui se poursuit par déroulement du peloton chromatique en une chaîne qui se fragmente, comme cela a lieu chez certains protozoaires.

Dans les premières phases, le noyau volumineux se modifie perd sa membrane et peut présenter les stades divers de la division indirecte. Mais en il ne s'agit pas d'une karyokinèse régulière: au lieu de la division en chromosomes telle qu'elle a lieu d'habitude, la chromatine forme un réseau confus (Fig. g, Tableau II) qui peut avoir la régularité d'un aster (Fig. 15, note à la Soc. de Biol. 17 octobre 1903); puis ce réseau devient plus net avec des points nodaux (Fig. h, Tableau II) et se déroule comme un chapelet dont les grains irréguliers renferment une division karyosomique colorée par le Giemsa en violet à reflets rouges (Fig. 14, Pl. I). Ce chapelet peut se diviser en fragments de plus en plus petits pour aboutir à la formation de très petits mérozoïtes. J'ai figuré ce processus dans les Fig. 8 à 14, Pl. I de mon Mémoire de

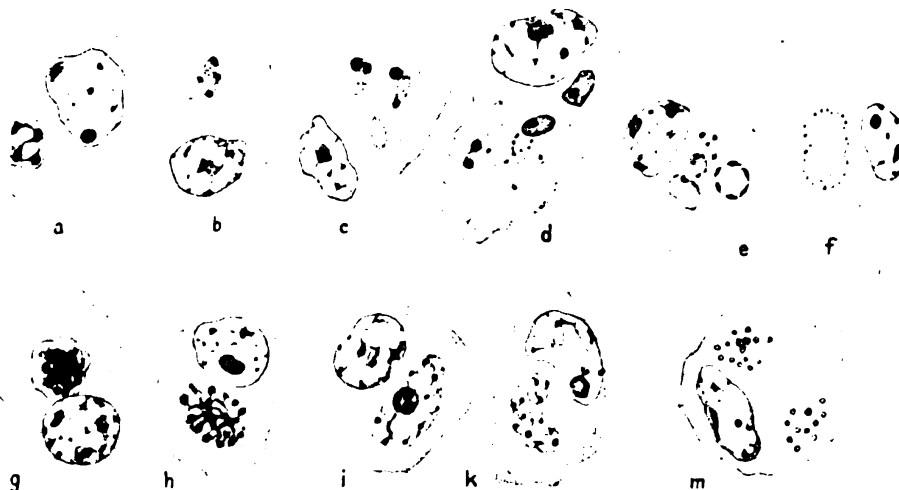


Tableau II.

1903 du Centralbl. f. Bakt. et dans les Fig. 15 à 19 de ma Note à la Soc. de Biol. du 17 octobre 1903.

Mais au lieu de ce déroulement du peloton chromatique on peut observer la distribution de la chromatine en un réseau de plus en plus délicat qui recouvre tout le protoplasma, avec des divisions karyosomiques qui se localisent aux points nodaux (Fig. i, Tableau II); puis les filaments s'étirent dans l'intervalle des points nodaux et l'on obtient la forme typique représentée Fig. 15, Pl. I: masse protoplasmique volumineuse présentant régulièrement distribués à sa surface, de petits amas étoilés de chromatine centrés par une division karyosomique et réunis par de très fins prolongement. Ces prolongements se rompent, la chromatine se contracte autour des karyosomes, puis le protoplasma autour de ces noyaux reconstitués et l'on a ainsi une morula volumineuse à nombreux mérozoïtes disposés autour d'une masse résiduelle (Fig. 16, Pl. I) et qui bientôt se libèrent dans la cellule-hôte vacuolisée (Fig. 17, Pl. I).

On observe des formations semblables mais de plus petite taille, comme le montrent les Fig. g, h, i, k du Tableau II.

Cycle sexué et évolution sporogonique. — L'étude de nombreuses préparations de fins raclages de pustules, surtout après



coloration par le Giemsa, nous a permis de constater une série de formes évolutives qui paraissent bien correspondre à des cycles sexués et à la formation de spores.

A. Eléments sexués mâles. — a) La cellule amiboïde indifférente (Fig. 4, Pl. I; Fig. e, d, Tableau I) à gros noyau entouré ou non de granulations nucleolaires et à karyosome central, présente un processus d'épuration nucléaire: dissolution de la membrane nucléaire, expression du karyosome avec apparition d'un réseau chromatique central (Fig. 18, Pl. I); puis étalement du noyau qui prend un aspect amiboïde tandis que la chromatine forme des filaments en réseau qui s'étalent vers la périphérie en même temps que des divisions de plus en plus petites du karyosome (Fig. 19, Pl. I). Ce réseau peut se diviser en deux et plusieurs parties dans le protoplasma du parasite devenu colossal pour constituer plusieurs centres de reconstitution nucléaire. Ainsi dans la Fig. 21, Pl. I, on constate quatre de ces centres dans chacun desquels le réseau chromatique présente des points de concentration de plus en plus nets de la chromatine autour de fines divisions karyosomiques; ces noyaux de nouvelle formation se portent à la surface, y font une saillie de plus en plus marquée et le protoplasma se contracte autour d'eux; ces petits noyaux se séparent par étirement du réseau chromatique central entraînant et tirant le protoplasma avec eux, de façon à former des microgamètes (Fig. 21, Pl. I). Cette Fig. 21, Pl. I est tout à fait typique; je n'ai pu la constater que deux fois avec une netteté emblable, dans des raclages cellulaires très fins colorés au Giemsa.

b) On peut suivre un processus un peu différent de recomposition nucléaire aboutissant à la formation de microgamètes dans les Fig. 23 à 28 de la Pl. II. La cellule indifférente dont le karyosome est déjà en mouvement (Fig. 23, Pl. II) montre une dissolution progressive de la membrane nucléaire et des nucléolides périphériques, avec dispersion de la chromatine en un réseau qui s'étend à toute la surface du parasite devenu très volumineux (Fig. 24, Pl. II). Le noyau achève de se dissoudre et les boules de chromatine homogène et pâlie qu'il contenait encore (restes de chromatine) se divisent en deux amas qui se portent aux deux pôles du parasite, tandis que le réseau chromatique devient plus précis et plus serré avec des points nodaux étoilés centrés par des divisions karyosomiques (Fig. 25, Pl. II). La chromatine achève de se répandre dans le réseau devenu très épais (Fig. 26, Pl. II) et l'on voit apparaître ensuite de nouveaux centres de formation nucléaire à mesure que le réseau s'atténue. C'est ainsi que dans la Fig. 27, Pl. II, il s'est reformé quatre centres nucléaires nouveaux par une sorte d'aspiration de la chromatine et des karyosomes distribués dans le réseau, et chacun de ces centres constitués surtout par de la chromatine présentent à leur périphérie de fines divisions karyosomiques. Ce processus aboutit à la formation de petits microgamètes distribués autour de restkörper volumineux (Fig. 28, Pl. II).

c) Une forme d'un très grand intérêt est celle qui est dessinée Fig. 29 et 30 de la Pl. II: dans le noyau du parasite devenu énorme par étalement, la chromatine se distribue en un réseau épais, renfermant plusieurs karyosomes de volume variable, mais, en même temps, l'on constate dans le protoplasma du parasite de fins corpuscules cocciques ou diplococciques colorés en violet noir par le Giemsa (Fig. 29, Pl. II). Puis le noyau s'étale davantage devient de plus en plus homogène et

pâle par disparition du réseau chromatique, tandis que le nombre des corpuscules augmente dans le protoplasma (Fig. 30, Pl. II).

Il s'agit vraisemblablement d'un processus spécial de reconstitution nucléaire qui est à rapprocher de celui qui a été signalé dans la formation des spores de *Coccidium proprium* et dans lequel la chromatine va constituer hors du noyau des corpuscules qui se divisent par étirement en petits corps représentant les sporoblastes. Il est difficile d'affirmer à quel stade ultime aboutissent les corpuscules de nos Fig. 29 et 30, Pl. II: peut-être ces corpuscules représentent-ils des formations nucléaires nouvelles autour desquelles le protoplasma va se contracter pour former de petits microgamètes; peut-être s'agit-il d'un processus de sporulation.

B. **Eléments sexuels femelles.** — Les Fig. 31 à 34 de la Pl. II m'ont paru correspondre à un stade sexué femelle avec formation de macrogamètes. La cellule indifférente s'est transformée en un volumineux parasite à très gros noyau dans le quel on note déjà un actif processus de division karyosomique (Fig. 31, Pl. II).

La chromatine se répand à la surface du parasite sous forme d'un réseau renfermant plusieurs karyosomes vacuolés (Fig. 32, Pl. II). Les karyosomes disparaissent dans le réseau chromatique plus foncé par concentration du suc nucléaire (Fig. 33, Pl. II). On constate ensuite une reconstruction nucléaire par répartition régulière du réseau chromatique sur toute la périphérie du parasite et sa division de plus en plus marquée en petits amas étoilés centrés par des divisions karyosomiques qui deviennent à peu près égales (Fig. 34, Pl. II). Nous n'avons pas rencontré le stade ultime de ce processus, mais il est très vraisemblable que la chromatine achève de se contracter autour des divisions karyosomiques pour constituer de nouveaux noyaux et donner naissance, après contraction du protoplasme, à des macrogamètes.

C. **Copulation et reproduction sporogonique.** — 1<sup>o</sup> **Copulation.** Nous n'avons pu constater qu'une seule fois une figure de copulation réellement typique; elle est représentée Fig. 35 de la Pl. II, où un microgamétocyte à divisions nucléaires multiples est accolé à une volumineuse cellule femelle à noyau arrondi.

2<sup>o</sup> **Formation de spores.** a) Les Fig. 36 et 37 représentent un stade consécutif à la copulation où la chromatine s'est dispersée entre les fragments du karyosome pour aboutir à une division plus régulière du réseau chromatique (Fig. 35, Pl. II) et à la formation d'un sporocyste dans lequel se produit une division active du karyosome. Le protoplasma se concentre autour de ces divisions nucléaires nouvelles pour donner naissance, dans ce sporocyste, à de nombreuses spores arrondies de 3  $\mu$  de diamètre environ (Fig. 40, Pl. II). Le noyau de chaque spore se divise à son tour en une série de corpuscules qui se portent vers la périphérie de la spore où ils donnent naissance à de très fins sporozoïtes (Fig. 42, Pl. II).

b) A côté de ce cycle à petites spores, j'avais déjà note en 1901 (Arch. de méd. expér. Mai 1901. Pl. X, Fig. 11 et 12), l'existence de grands kystes ovalaires à double enveloppe et tétrasporés. Ces formations sont rares et ne se trouvent que dans l'épithélium malpighien de pustules avortées ou en dessication. J'en ai retrouvé tout récemment et la figure n du Tableau III montre un de ces grands kystes, identique à ceux de *Coccidium ovi forme*, enfermé dans une cellule malpighienne hypertrophiée et formé par une paroi kystique à double contour avec une

grosse sphère protoplasmique granuleuse renfermant un volumineux noyau à chromatine rayonnée.

c) A côté de ces kystes il faut placer des formations qui paraissent correspondre à des kystes à microspores et que j'ai déjà représentées en x, Fig. 2 de ma note à la Soc. de Biologie du 17 oct. 1903 et qui sont identiques à celles que j'ai décrites dans la variole et que Negri a vues dans la rage. Ce sont des formations rondes ou ovalaires de 4 à 8  $\mu$  de diamètre, formées par une enveloppe mince renfermant un grand nombre de corpuscules vacuolés très réfringents et bien mis en évidence par le Mann qui les colore en rouge vif. Ces microkystes existent fréquemment dans la cellule-hôte en même temps que des formes cocciques vacuolaires ce qui pourrait laisser penser que certaines des formes cocciques un peu volumineuses (Fig. 2, de ma note à la Soc. de Biologie du 17 oct. 1903) sont des microspores dont les sporozoïtes seraient représentés par les formes cocciques et diplococciques invisibles (Fig. m, Tableau I).

d) A noter enfin un mode de formation de microspores identique à celui d'*Halteridium* de l'alouette: protoplasma en croissant et qui

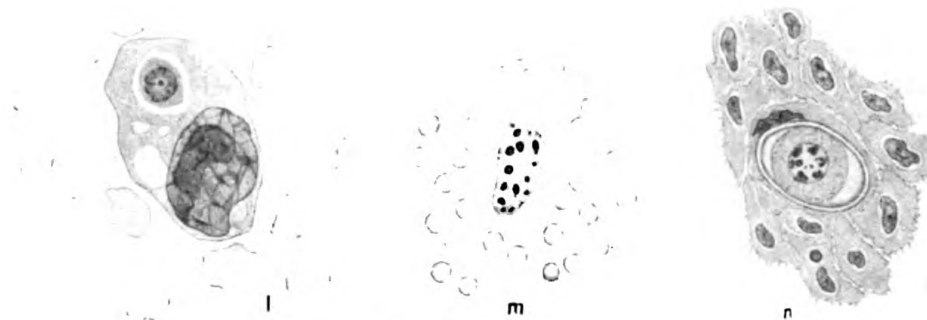


Tableau III.

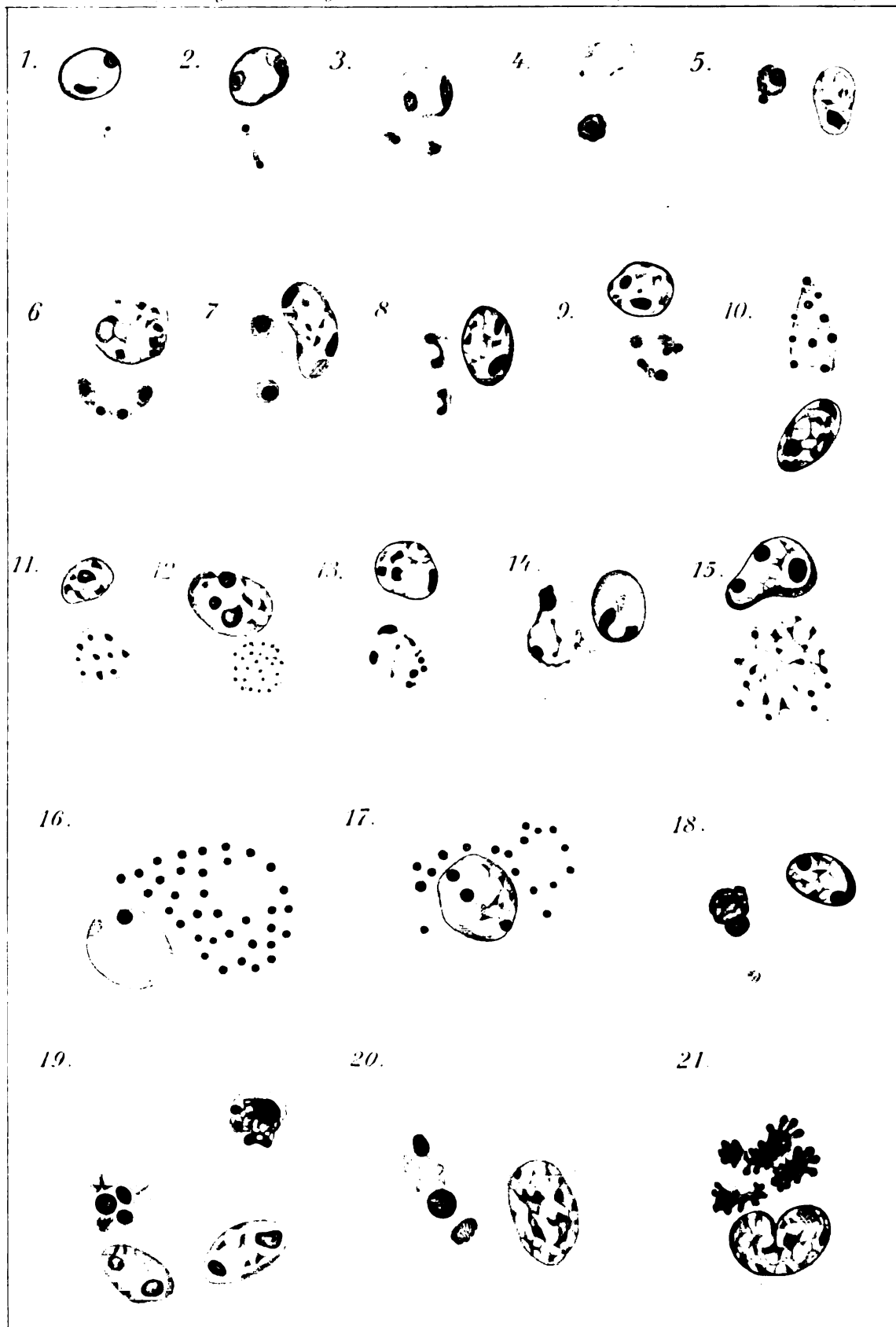
présente à ses deux extrémités un amas de petits corpuscules ronds, vacuolaires et colorés en rouge vif par le Mann (Fig. m, Tableau II).

**II. Recherche des protozoaires dans le sang.** — Dès 1901 (Arch. de méd. expér.) j'avais noté la présence dans le sang circulant de formes parasitaires identiques à celles que j'avais décrites dans les cellules du chancre d'inoculation.

Ces éléments étaient libres dans le sang où-ils se présentaient sous forme de gros cocci colorés en bleu foncé par la thionine; de corps arrondis de 2 à 3  $\mu$  de diamètre formés par un gros noyau entouré d'une mince couche de protoplasma, isolés (Fig. 2, m, Pl. XI, Arch. de méd. expér. Mai 1901) ou réunis en petits groupes représentant des parties de morula (Fig. 2, div, Pl. XI, ibid.); enfin de corps amiboïdes de 4 à 12  $\mu$ , formés par un protoplasma dense et un gros noyau à volumineux karyosome (Fig. 2, par, Pl. XI, ibid.).

Après avoir démontré expérimentalement la virulence du sang et fixé son maximum à la fin de la période prodromique et au début de la période eruptive, je repris la recherche des formes parasitaires en circulation dans le milieu sanguin. Ces formes sont assez difficiles à mettre en évidence car elles ne font que passer dans le sang pour aller se fixer dans les cellules de la peau et des organes. En raison de cette





*Verlag von Gustav Fischer in Jena.*

*Lith. Anst. v. H. Gölisch, Jena.*

affinité pour les cellules fixes les parasites sont libres dans le sang; on trouve cependant quelques uns de ces parasites dans l'intérieur des globules blancs.

A. Parasites libres dans le sang. — J'ai trouvé dans le sang: 1° Des formes cocciques de petite taille colorées en bleu à reflets rouges par le Giemsa; 2° des petites formes protoplasmiques nucléées constituant des schizontes de 2 à 3  $\mu$  de diamètre et dont le protoplasma est coloré en rose par le Giemsa; 3° de grandes formes amiboïdes, de 8 à 15  $\mu$ , formées par un protoplasma abondant (coloré en rose par le Giemsa) et parsemé de divisions karyosomiques (Fig. m, Tableau III), constituant le stade de division qui précède la formation de mérozoïtes.

B. Parasites intraleucocytaires. — Je n'en ai observé que deux fois, inclus dans le protoplasma de grands mononucléaires hypertrophiés. Ces parasites étaient formés d'un protoplasma amiboïde et d'un noyau à chromatine rayonnée (p, Fig. l, Tableau III).

### Bibliographie

des publications du Prof. F. J. Bosc au sujet du virus claveleux.

- 1897 Les bases de la prophylaxie. (Rapp. au Congrès int. de Moscou. Sect. d'Hyg.)
- 1897 La clavelée, la vaccine, la variole, le cancer. (Congrès int. de Moscou. Sect. de pathol. génér.)
- 1901 Le parasite de la clavelée. (Compt. Rend. Soc. de Biol. 5 janv.)
- 1901 Les maladies à sporozoaires. La variole, la vaccine, la clavelée, le cancer. (Arch. de Méd. expér. Mai 1901. Planches en coul.)
- 1902 De l'existence dans toutes les lésions claveleuses et dans le sang, de corps particuliers de structure précise; leur assimilation structurale et évolutive avec un sporozoaire. (Compt. Rend. Soc. de Biol. 1902. p. 117.)
- 1902 Etude des lésions claveleuses. Leur assimilation avec les lésions de la vaccine, de la variole, de la syphilis et du cancer. (Ibid. 1902. p. 114.)
- 1902 Démonstration de la virulence du sang dans la clavelée. (Ibid. 1902. p. 112.)
- 1903 Des étapes du processus inflammatoire. Introduction à l'étude des maladies bryocytiques. (Presse méd. 1903. p. 53.)
- 1903 Nouvelles recherches sur la structure, les formes évolutives et la nature du parasite de la clavelée. (Compt. Rend. Soc. de Biol. 1903. p. 1175.)
- 1903 Les épithéliomas parasitaires. La clavelée et l'épithélioma claveleux. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. No. 5, 6, 7.)
- 1905 Conservation indéfinie du virus claveleux: procédé de la sangsue. (Compt. Rend. Soc. de Biol. 1905. p. 299.)
- 1905 Les maladies à protozoaires. La variole. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905.)

### Explication des Planches.

#### Planche I.

Raclages de pustules claveleuses fixés en couche mince et colorés par le Giemsa pendant 10 à 48 heures.

Fig. 1 à 17. Reproduction asexuée.

Fig. 1. Petite forme amiboïde nucléée.

Fig. 2 et 3. Division à type centrosomique.

Fig. 4. Forme amiboïde indifférent à gros noyau complexe.

Fig. 6 à 9. Division à type de centronucléus.

Fig. 10 à 17. Division asexuée à mérozoïtes, avec division du karyosome (Fig. 10) formation d'une morula et de mérozoïtes (Fig. 11 et 12). Déroulement du peloton chromatique (Fig. 14).

Fig. 18 à 21. Formes mâles avec épuration nucléaire (Fig. 18), reconstitution du noyau (Fig. 19) et formation de microgamètes (Fig. 21).

## Planche II.

Raclage de pustules; coloration au Giemsa.

Fig. 23 à 28. Formation de microgamètes avec dissolution progressive du noyau, formation d'un réseau chromatique (Fig. 23 à 27), reconstitution des noyaux (Fig. 27) et formation de petits microgamètes.

Fig. 31 à 34. Formation de macrogamètes, avec dissolution du noyau, formation d'un réseau chromatique (Fig. 31 à 33) et reconstitution nucléaire (Fig. 34).

Fig. 35. Eléments mâle et femelle en copulation.

Fig. 36 à 42. Cycle sporogonique avec épuration nucléaire (Fig. 36 et 37), formation de sporocystes (Fig. 38 à 41) et de très fins sporozoïtes (Fig. 41 et 42).

*Nachdruck verboten.*Recherches sur la spirochétiose des poules de Tunisie et sur son agent de transmission: *Argas persicus* Fischer.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

3<sup>e</sup> Mémoire.

Par B. Galli-Valerio.

Depuis la publication de mes notes sur cette question<sup>1)</sup>, j'ai eu l'occasion de faire quelques nouvelles observations sur la spirochétiose des poules et sur son agent de transmission.

Avant d'exposer ces observations, je tiens beaucoup à rappeler, que dans mon dernier mémoire, j'avais insisté sur le fait que les différentes espèces de spirochètes décrites chez les oiseaux domestiques, doivent toutes être rapportées à une seule espèce: *Sp. anserina* Sacharoff. Je suis heureux de voir que cette idée est complètement admise aussi par Nuttall<sup>2)</sup> qui écrit:

"I have seen blood-films and determined the thick from many different places where the disease has been recorded. Personally, there is no longer any doubt in my mind as to the identity of *Sp. anserina* Sacharoff and *S. gallinarum*."

Si le plaisir de créer de nouveaux noms et de nouvelles espèces, qui encombrant sans aucun but la littérature médicale, n'était pas si grand chez un grand nombre de parasitologistes, je suis convaincu que cette idée serait admise dans toutes les publications scientifiques.

Et maintenant voici en résumé mes nouvelles observations:

## 1. Essais de transmission de la spirochétiose.

Exp. 1. Un *A. persicus* de Houmt-Souk (Ile de Djerba, Tunisie) qui avait transmis la spirochétiose à un jeune coq le 6. 2. 1911 (Exp. 4, 2<sup>e</sup> Mém.), meurt le 26. 10. 1911. Ecrasé dans de la solution physiologique stérile. Le liquide coloré au Leishman, ne présente point de spirochètes, mais des corpuscules minces, fusiformes à bouts très effilés et à espaces clairs. Inoculé dans les pectoraux d'une poule, il ne provoque aucun trouble.

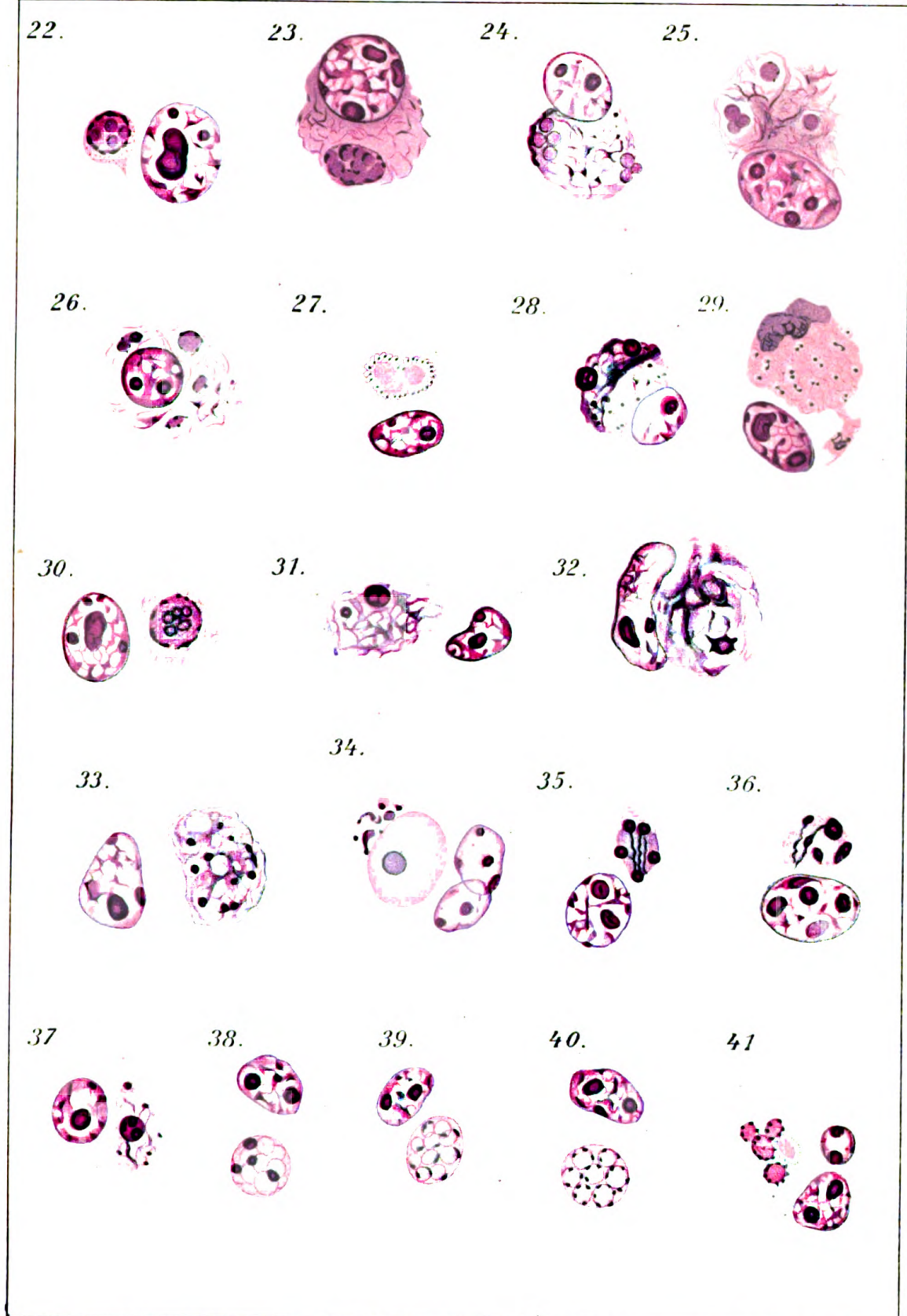
Exp. 2. Un autre *A. persicus* ayant servi à la même expérience du 6. 2. 1911 et encore vivant, est placé le 4. 11. 1911, sur une jeune poule. Il y reste fixé  $\frac{1}{4}$  d'h. Aucun trouble.

Exp. 3. Un 3<sup>e</sup> *A. persicus* de la même série, placé le même jour sur une poule, y reste fixé  $\frac{1}{4}$  h. avec le même résultat négatif.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 494; Bd. 50. 1909. p. 189; Bd. 61. 1911. p. 529.

2) Parasitology. Vol. 5. 1912/13. p. 262.





Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. A. Giltisch, Jena.





Exp. 4. Un *A. persicus* ayant piqué un jeune coq infecté de spirochétiose le 14. 2. 1911 (Exp. 4, 2<sup>e</sup> Mém.) est placé le 21. 12. 1911 sur une jeune poule. Il y reste fixé une heure, sans déterminer aucun trouble.

Exp. 5. Un 2<sup>e</sup> exemplaire ayant piqué le même coq, meurt le 21. 12. 1911. Ecrasé dans la solution physiologique stérile. Le liquide ne montre à l'ultramicroscope que des granulations brillantes sans spirochètes, au Leishman de fines granulations colorées en rougeâtre. Inoculé dans les muscles pectoraux d'une poule, il ne détermine aucun trouble.

Exp. 6. 76 *A. persicus* de Houmt-Souk, récoltés le 22. 12. 1911 et reçus à Lausanne le 29. 12. 1911, gardés à 30—35° C, sont trouvés morts le 1. 6. 1912. Ecrasés dans la solution physiologique stérile. Le liquide examiné, montre les mêmes corpuscules que dans l'Exp. 5. Inoculé dans les pectoraux d'une poule. Le 5. 6, cette poule est couchée sur son ventre. Point de lésion au point inoculé. Examen du sang à frais et au Leishman: Point de spirochètes. Par ci par là dans les hématies, corpuscules ronds ou en gourde de 1—2  $\mu$ , colorés en violacé. Il y en a même de petits (0,50  $\mu$ ) en amas près de certaines hématies. Cultures du sang négatives. Le 10. 7. cette poule, qui a énormément maigri, est couchée sur le flanc. L'examen du sang montre leucocytose intense, mêmes corpuscules, parfois en 8 de chiffre, qui semblent entourés par une auréole claire. Le 11. 7. la poule est couchée et respire à peine. Du sang citraté placé à 37° C ne montre point de spirochètes. Morte le 12. 7.: Crête cyanosée, muqueuses très pâles, légère tuméfaction de la rate. Examen des frottis du sang et des organes et des coupes au Volpino-Levaditi: Point de spirochètes, mêmes corpuscules que dans les examens précédents. Cultures négatives.

Exp. 7. Un c.c. de sang pris à la veine de l'aile de la poule de l'Exp. 6, est inoculé le 11. 7. 1912 dans les pectoraux d'un poulet. Cet animal a présenté un amaigrissement progressif. L'examen du sang a montré les mêmes lésions que dans l'Exp. 6. Il est mort le 7. 11. dans un marasme profond, présentant les mêmes lésions que la poule de l'Exp. 6.

Exp. 8. Un c.c. de sang de la poule de l'Exp. 6 est inoculé dans les pectoraux d'une jeune poule le 12. 7. 1912. Cette poule a présenté les mêmes symptômes et les mêmes lésions que le poulet de l'Exp. 6. Elle est morte le 28. 11. Deux pigeons inoculés de la même façon, l'un le 12. 7. 1912, l'autre le 28. 11. n'ont rien présenté.

Si nous examinons les observations que je viens d'exposer, on peut faire les remarques suivantes:

1. Des *Argas* ayant transmis la spirochétiose, n'ont plus pu la transmettre, par inoculation ou par piqûre 9 et 10 mois après (Exp. 1, 2, 3).
2. Des *Argas* ayant piqué un coq atteint de spirochétiose, n'ont pas transmis l'infection, par inoculation ou par piqûre, 9 mois après (Exp. 4, 5).
3. Des *Argas* récoltés gorgés de sang à Houmt-Souk, inoculés à la poule après 6 mois, ont déterminé une affection chronique sans spirochètes, inoculable à la poule mais pas au pigeon. (Exp. 6, 7, 8.)

Dans les expériences 1, 2, 3, je ne puis pas dire si l'inoculation avait donné une immunité, comme Marchoux et Couvy<sup>1)</sup> l'ont constaté, le matériel de réinoculation m'ayant fait défaut. On sait en effet, d'après ces observateurs, que 20 000 spirochètes infectent, 1700 vaccinent, et 700 n'ont aucune action.

Dans les expériences 4 et 5 il manque naturellement la preuve que les *Argas*, tout en ayant absorbé le sang d'un coq infecté, se soient réellement infectés, vu que les granulations trouvées chez un de ces *Argas*, existent aussi, suivant Marchoux et Couvy, même chez des *Argas* normaux. Quant aux expériences 6, 7, 8, les inoculations successives à la poule, n'ayant pas permis de mettre en évidence des spirochètes, on ne peut pas affirmer que ces poules ont succombé à une spirochétiose chronique ou à une infection de nature encore mal connue, comme pense aussi Gleitsmann<sup>2)</sup>.

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1913. p. 450 et 620.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. p. 31.

## 2. Observations sur la biologie d'*A. persicus*.

J'ai observé une curieuse disposition des femelles d'*A. persicus* pendant la ponte: Un groupe de ces parasites, placé sur de la terre dans un bocal à 30° C, a enfoncé l'extrémité antérieure entre la terre et les parois du bocal et la ponte a été effectuée dans cette position. *A. persicus* semble être doué d'une résistance assez grande aux températures élevées et basses: J'ai placé dans un récipient contenant de l'eau, un morceau de coton contenant deux *Argas* que je croyais morts et j'ai porté à l'ébullition. L'eau bouillait déjà depuis  $\frac{1}{2}$  h. quand les deux *Argas* ont fait leur apparition, encore vivants à la surface du coton, dont une partie seulement était submergée.

J'ai placé un bocal contenant 10 *Argas* sur une fenêtre du 29. 12. 1911 au 26. 4. 1912. Ils y ont supporté des températures de -5—7° C. Un seul est mort, les autres ont été encore capables de piquer la poule.

J'ai fait plusieurs essais sur la résistance au jeûne d'*A. persicus* gardés à 25—30° C. On sait que Borrel et Marchoux les ont vus résister 1 année, Robertson 2 années et 3 mois, Lounsbury un peu plus de 2 ans et, Laboulbène plus de 3 ans<sup>1)</sup>. Mes recherches ayant porté sur 36 *A. persicus* de Tunisie, ont donné les résultats suivants: 3 (8,33 %) ont vécu 6 mois, 7 (19,44 %) 7 mois, 9 (25 %) 9 mois, 5 (11,11 %) 10 mois, 5 (11,11 %) 11 mois, 2 (5,55 %) 13 mois, 1 (2,77 %) 15 mois, 3 (8,33 %) 18 mois et 1 (2,77 %) 21 mois.

### Résumé.

1) *A. persicus* infectés de *Sp. anserina*, n'ont plus infecté après 9—10 mois.

2) *A. persicus* de Houmt-Souk, ont déterminé, 6 mois après leur arrivée à Lausanne, une infection chronique mortelle chez la poule.

3) *A. persicus*, est assez résistant aux températures élevées et basses, et il peut résister au jeûne 21 mois.

Lausanne, 24 novembre 1913.

1) Nuttall, Warburton, Cooper, Robinson, Ticks. Part 1: Argasidae. Cambridge 1908. p. 84.

*Nachdruck verboten.*

## Beobachtungen über Culiciden.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio** und **J. Rochaz de Jongh**.

Mit 1 Figur.

Unsere Beobachtungen über Culiciden von Ende Oktober 1912 bis Ende Oktober 1913 können, wie folgt, zusammengefaßt werden:

a) Beobachtungen über die Ueberwinterung der Culiciden:

In den Pfützen der Orbeebene sind vom 20. Okt. bis 3. Nov. 1913 die Culicidenlarven und -puppen sehr zahlreich; aus diesen entwickeln sich im Laboratorium ♂ und ♀ von *Th. annulata*, *C. pipiens* und *C. nemorosus*. Interessant zu notieren ist das plötzliche Vorkommen einer großen Menge von *Th. annulata* in diesen Pfützen, da daselbst diese Art in den letzten Jahren äußerst selten war. Puppen von *Th. annulata* und *C. pipiens*, die in einem Behälter mit Wasser zwischen Fenster und Doppelfenster gestellt waren, entwickelten sich trotz einer Temperatur von  $+2^{\circ}$ . Ein ♀ von *C. pipiens*, dort entwickelt, lebte 7 Tage ohne Nahrung, ein ♀ von *Th. annulata* 10 Tage und ein ♂ dieser Art sogar 17 Tage. In derselben Zeitperiode fanden wir auch Larven von *A. bifurcatus* und eine einzige Puppe dieser Art am 20. Okt. Am 24. Nov. beobachteten wir (Lufttemperatur 0, Wassertemperatur  $+1^{\circ}$ ) in der Orbeebene das Auftreten zahlreicher, sehr kleiner, eben ausgekrochener *Culex*-Larven. Da das Wetter mild geblieben war, kamen noch während des Dezembers *Culex*-Larven zum Auskriechen. Den Winter über waren in diesen Pfützen die Culicinenlarven sehr zahlreich, die Anophelinenlarven ziemlich zahlreich. Am 1. Jan. 1914 fanden wir in Wasser enthaltenden Bodenvertiefungen im Walde von Montcherand (Orbe) und unter einer 1 cm dicken Eisdecke (Lufttemperatur  $+2^{\circ}$ , Wassertemperatur  $+1^{\circ}$ ) ungemein zahlreiche, eben ausgekrochene *Culex*-Larven. Diese Larven entwickeln im Laboratorium Puppen und Imagines von *C. nemorosus*. Am 9. Febr. fanden wir ebenda unter einer Eiskruste von 2 cm eine große Zahl kleiner und mittelgroßer Larven von *Corethra velutinus*, die vor nicht langer Zeit ausgekrochen sein mußten. Larven von *A. bifurcatus* müssen ziemlich zahlreich auch in den Pfützen der Umgebung von Sondrio (Veltlin) überwintert haben, denn am 15. März fanden wir dort große Larven dieser Art, aber nur einzelne *Culex*-Larven.

Eine Menge Puppen von *Culex* (*C. nemorosus*, *C. cantans*) fanden wir in den Pfützen der Orbeebene am 26. April (Lufttemperatur  $+13^{\circ}$ , Wassertemperatur  $+17^{\circ}$ ). Erst im Monat Mai fanden wir dort die ersten Puppen von *A. bifurcatus*.

Im Sommer 1913 war *A. maculipennis* äußerst selten in Orbe wie in Sondrio. Die Imagines von *C. pipiens* und *C. nemorosus* fingen am 12. Okt. 1912 und Ende September 1913 in die Keller der Häuser einzudringen an.

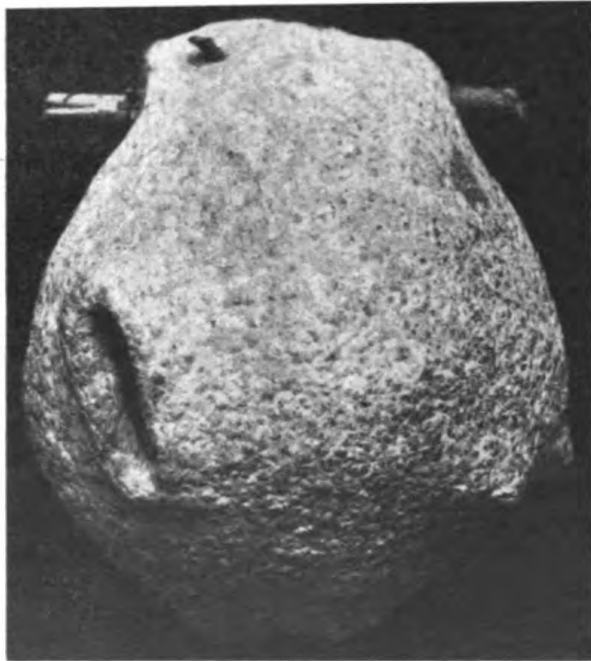
b) Beobachtungen über Mückenstiche und Eierabsetzen der Culiciden.

Wir konnten wieder beobachten, daß *Th. annulata* den Menschen sticht: Ein ♀ dieser Art, das sich vom 20. auf den 21. Okt. 1912 entwickelt hatte, versuchte am 22. und 24. Okt. zu stechen, während ein anderes, an demselben Tage entwickeltes nicht stechen wollte; es stach aber am 26. Am 25. Mai 1913 (Lufttemperatur + 17°) fingen in Orbe die ♀ von *C. nemorosus* und *C. cantans* an zu stechen. Vom 4. bis 11. Mai fanden wir in einem Stalle in Orbe sehr viele ♀ von *A. bifurcatus* und seltene ♀ von *C. pipiens*. Sie saugten sich an den Pferden mit Blut voll. Einige dieser mit Pferdeblut vollgesaugten ♀ von *A. bifurcatus* wurden in einen Glaskäfig mit einem kleinen Wasserbehälter gebracht. Sie setzten vom 15.—19. Mai auf der Wasseroberfläche sternartig geordnete Eier ab; jeder Stern ist von 5 Eiern gebildet. Diese Eier entwickelten sich im Laboratorium vom 23.—24. Mai. Pferdeblut ist somit dem Eierabsetzen von *A. bifurcatus* sehr förderlich.

c) Beobachtungen über Culicidenbrutplätze.

In unseren Beobachtungen des letzten Jahres<sup>1)</sup> teilten wir mit, daß eine kleine, Wasser enthaltende Höhlung im Stamme einer *Abies pec-*

*tinata* in einer Höhe von 900 m am Fuße des Juras, Larven von *C. ornata* enthielt. Am 27. Sept. 1913 fanden wir in dieser Höhlung mehrere sehr kleine Larven von *A. nigripes*. Diese Beobachtung bestätigt unsere in den soeben zitierten Beobachtungen aufgestellte Meinung, d. h. daß Nachforschungen im Wasser solcher Höhlungen öfter, als man annehmen könnte, diese interessante Art entdecken lassen würden. Ein merkwürdiger Brutplatz ist uns von einem brasilianischen Studenten an der Universität Lausanne angegeben worden. Es handelt sich nach Prof. Bouvier<sup>2)</sup> sehr wahrscheinlich um ein Nest von



*Polybia emaciata* Lucas. Es besteht (Fig. 1) aus einem kugeligen Erdballen von etwa 12 cm Durchmesser, mit einer spaltenförmigen Öffnung von 3 cm Länge und 8 mm Breite. Es hängt an einem, die Wände des Nestes durchbrechenden Zweige. Nachdem dieses Nest von *P. emaciata* verlassen worden war, füllte es sich mit Regenwasser

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. p. 474.

2) Wir verdanken Herrn Prof. Bugnion die Klassifizierung des besagten Nestes.

an und diente als Culicidenbrutplatz, wie uns der besagte Student erzählte.

Im Sommer 1913 sahen wir den Einfluß, welcher lokale Aenderungen in gewissen Culicidenbrutplätzen ausüben: Ein kleiner Abflußkanal in der Nähe von Sondrio, welcher immer viele Culicinen- und Anophelinenlarven enthielt, wies im Sommer 1913 gar keine auf, und zwar einfach, weil der Kanal eben ausgebaggert, von Schilf, *Carex*, *Nasturtium* gesäubert, und eine geringe Strömung hergestellt worden war. Eine kleine Pfütze in derselben Gegend, die sonst viele Culicidenlarven enthielt, enthielt dieses Jahr keine einzige, wohl aber eine Menge von Larven von *Oeschna*, welche wahrscheinlich die Culicidenlarven aufgefressen hatten. Diese Aenderungen in der Flora und Fauna, vereint mit klimatischen Einflüssen, spielen eine wichtige Rolle in den Schwankungen der Mückenzahl in einer gegebenen Ortschaft.

Die große Wichtigkeit, welche die Beseitigung auch der kleinsten stagnierenden Wasseransammlungen hat, ist uns wieder einmal in der Orbeebene klargemacht worden: Pfützen wurden mit Kehrlicht aufgeschüttet; dieses Material enthielt aber in Menge altes Kochgeschirr, halbzerbrochene Schüsseln usw., die sich mit Regenwasser füllten und im Oktober 1913 sehr viele *Culex*-Larven beherbergten. Im Falle solcher Aufschüttungen mit Kehrlicht sollte man daher Sorge tragen, hauptsächlich in Gegenden, wo Malaria, gelbes Fieber und Filariasis herrschen, solch altes Geschirr sorgfältigst unter dem übrigen Material zu vergraben.

Lausanne, 5. Nov. 1913.

*Nachdruck verboten.*

## Ein Beitrag zur Anatomie von *Gigantorhynchus otidis* Miesch.

[Aus dem Zoologischen Laboratorium der Militär-medizinischen Akademie in St. Petersburg.]

Von Dr. N. Kostylew.

Mit 11 Figuren im Text.

Synonyme von *Gigantorhynchus otidis* Miesch.:

*Echinorhynchus otidis* Miesch.

*E. houbarae* M.

*E. taeniatus* v. Linst.

*E. segmentatus* Marval.

Definitive Wirtstiere:

*Houlara macquenii* (*Otis macquenii*).

*Oedienemus crepitans*; *O. tarda*.

*Numida ptilorhyncha*; *O. spec.*?

*N. rikwae*.

Zwischenwirte unbekannt.

Die Exemplare, welche der vorliegenden Mitteilung zugrunde liegen, wurden im Darne von *Otis macquenii* und *Oedienemus crepitans* aus der Umgebung des Flusses Emba angetroffen, und zwar ist dies der erste Hinweis auf das Vorkommen unseres Parasiten in diesen

Vögeln. Der Körper von *G. otidis* besitzt eine Länge von 8–9 cm, und ist in 50–70 kegelförmige Segmente eingeteilt, welche sich nach beiden Körperenden hin ausgleichen. Im Querschnitt zeigt der Körper bei den Exemplaren aus *Otis macqueni* eine vollkommen runde Gestalt, während er bei den Exemplaren aus *Oedicnemus crepitans* flach erscheint. Der Rüssel ist halbkugelförmig; seine Länge beträgt 0,26 mm, seine Dicke an der Basis 0,48 mm. Er sitzt auf einem bewehrten Halse, dessen Länge 0,64 mm, und dessen Querdurchmesser an



Fig. 1.

der Basis 0,74 mm, in der Mitte 0,80 mm und an dem Gipfel 0,58 mm beträgt. Die Bewaffnung des Rüssels und des Halses entspricht den von Marval für *Ech. otidis* mitgeteilten Verhältnissen<sup>1)</sup>, und zwar beträgt die Zahl der Längsreihen von Häkchen auf dem Rüssel 12, wobei eine jede Reihe aus 1–2 Häkchen besteht; auf dem Halse dagegen die Zahl der Längsreihen von Häkchen 30, diejenige der Querreihen 6. Die Anordnung der Häkchen ist eine quincunciale. Die näher zum Gipfel stehenden Häkchen sind mehr spitz und dünn, als die an Basis des Rüssels stehenden, welche größer und massiver erscheinen.

Dimensionen der Häkchen des Rüssels	I. Querreihe	II. Querreihe
Länge der Häkchen	0,0462 mm	0,0924–0,1089 mm
Länge der Basis	0,0469 „	0,099 mm
Dicke an der Umbiegungsstelle	0,0132 „	0,033 „

Die Häkchen (Fig. 6) sind von allen Seiten von Chitin umgeben; außerdem besitzt ihre Wurzel einen nach vorne gerichteten Fortsatz, was in für die Gattung *Gigantorhynchus* charakteristisches Merkmal darstellt. Die den Hals umgebenden Stacheln (Fig. 7) sind dünn und viele derselben sind klauenförmig gekrümmt. Ihre Länge beträgt circa 19  $\mu$ , ihre Dicke 3  $\mu$ . Die Basis eines jeden Stachels ist von einer über die Körperoberfläche vorragenden Erhöhung umgeben.

Der hier beschriebene Kratzer ist in der Literatur unter zwei Namen bekannt: die junge Form, bei welcher die Segmentierung in Gestalt metamer angeordneter Knötchen kaum erst angedeutet ist, ist schon vor langer Zeit unter dem Namen *Ech. otidis* Miesch. (1841) beschrieben worden, während die erwachsene, wie in dem gegebenen Falle mit einer sehr charakteristischen Segmentierung versehene Form unter dem Namen *Ech. taeniatus* v. Linst. (1900)<sup>2)</sup> = *Ech. segmentatus* Marval (1902)<sup>3)</sup> bekannt geworden ist.

Im Jahre 1905 hatte Marval die Vermutung ausgesprochen, *Ech. taeniatus* v. Linst. könnte identisch sein mit *Ech. otidis* Miesch., doch konnte er sich nicht mit Gewißheit über diesen Gegenstand aussprechen, da bei den von ihm untersuchten Exemplaren die Rüssel abgerissen waren und bei v. Linstow keinerlei Angaben über die Bewaffnung des Halses zu finden sind. Der Umstand, daß ich bei den von mir untersuchten Exemplaren eine Bewaffnung des Halses nachweisen konnte, sowie die Uebereinstimmung dieser letzteren mit der

1) Marval, Monographie des Acanthocephales. (Rev. Suisse de Zool. T. 13. 1905.)

2) v. Linstow, Helminthen von den Ufern des Nyassasees. 1901.

3) Marval, Étude sur quelques Echinorhynques. (Arch. de Pathol. T. 5. 1902.)



Bewaffnung bei *Ech. taeniatus*, gestattet es mir, diese beiden Arten für identisch zu erklären.

In bezug auf den Bau der Körperwandung kann Nachstehendes hervorgehoben werden. Unter der an der Basis des Halses einen kutikulären Ring bildenden, strukturlosen Cuticula findet sich eine quer-gestreifte, faserige subcuticulare Schicht von  $10\ \mu$  Dicke. In der darunter liegenden Schicht hypodermaler Fasern, welche in 3 senkrecht zueinander orientierten Richtungen verlaufen, ist eine Gruppierung der Fasern zu einzelnen Schichten nicht zu bemerken.

In der noch tiefer liegenden Schicht radialer Fasern ist ein System von Lakunen enthalten. Von den längsgerichteten Lakunen erreicht die dorsal gelegene Lakune die bedeutendste Größe. Die hier befindlichen Kerne sind von unregelmäßig-ovaler Gestalt; ihre Größe beträgt 30 auf  $10\ \mu$ . Die Lemnisk (Fig. 2) übertreffen die Größe der Rüsselscheide um das Doppelte (ihre Länge beträgt 2,8 mm, ihre Dicke 0,42 mm); im Querschnitt sind sie von runder Gestalt. Ein jeder Lemnisk enthält 6 Kerne (deren Größe  $0,0825-0,1\ \text{mm} \times 0,0165 \times 0,033\ \text{mm}$  beträgt), wobei die Längsachse eines jeden Kernes senkrecht zur Länge des Lemniskens angeordnet ist. Von außen ist der Lemnisk von einer Muskelquille, dem „compressor lemniscorum“ umhüllt.

Die Muskelfasern, welche die äußere ringförmige Schicht bilden, zeigen auf dem Querschnitt das Aussehen unregelmäßiger Kreise von etwa  $14\ \mu$  Durchmesser. Die kontraktile Fibrillen sind hauptsächlich an ihrer äußeren und seitlichen Oberfläche angeordnet.

Gehen wir nunmehr zu dem Studium der Längsmuskulatur über, so finden wir, daß die Körperhöhle entsprechend einem jeden Segmente eine

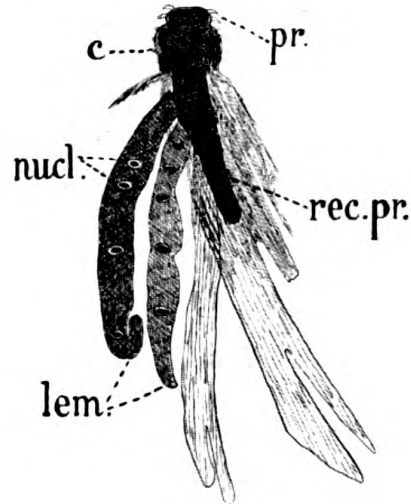


Fig. 2.

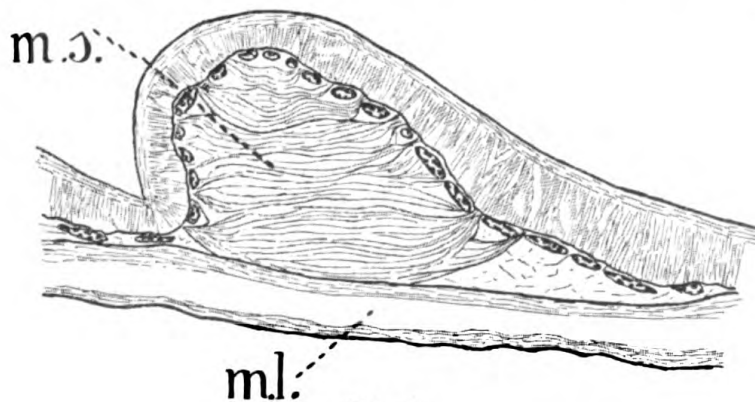


Fig. 3.

Erweiterung aufweist, und daß diese ringförmige Erweiterung ganz mit längs verlaufenden Muskelfasern angefüllt ist (Fig. 3). Letztere haben das Aussehen breiter Bänder, welche senkrecht zur Körperwand gestellt sind; ihre Zahl beträgt in jedem Segmente bis zu 50. Sie anastomosieren untereinander und inserieren durch einzelne Fortsätze an der antero-



und posteriolateralen Fläche des gleichen Segmentes. In der zentralen Höhlung einiger dieser Bänder kann man bisweilen einen Kern antreffen. Ein direkter Uebertritt dieser Muskelfasern aus einem Segmente in ein anderes benachbartes habe ich niemals beobachten können. Medialwärts von diesen Bändern liegen andere, längsgerichtete Muskelfasern von geringerem Durchmesser und in geringerer Anzahl, welche die „eigentliche Längsmuskulatur der Körperwand“ darstellen (Fig. 4 u. 5). In den inter-

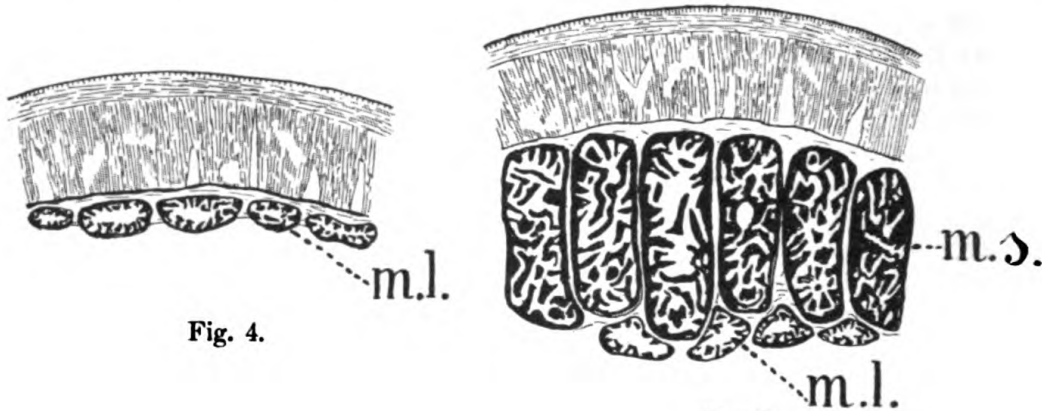


Fig. 4.

Fig. 5.

segmentalen Zwischenräumen verlaufen nur diese letzteren Fasern. Diese Fasern stehen mit den die Höhlung des Segmentes ausfüllenden Muskelfasern durch Anastomosen und durch unmittelbaren Uebergang von Fibrillen aus ersteren Fasern in letztere in Verbindung, jedoch nur an einigen Stellen. Die Verbindung zwischen den beiden Fasersystemen ist indessen keine so innige, als daß man nicht ein jedes Segment für bis zu einem gewissen Grade selbständig ansehen könnte. Was die Bildungszellen der glatten Muskelzellen anbelangt, so reichen sie in die Bauchhöhle, wie ein Säckchen der inneren Seite des Muskelzylinders anliegend.

Die Rüsselscheide besitzt eine Länge von 2 mm; die Dicke ihrer vorderen Hälfte beträgt 0,38 mm, diejenige der hinteren Hälfte 0,19 mm. Ihr Bau zeigt viel Analogie mit dem Baue des Receptaculum proboscidis von *Gigantorhynchus giganteus* S., und zwar stellt sie einen einschichtigen Muskelschlauch dar, dessen aus Muskelfibrillen bestehende Wandung nur in der hinteren Hälfte des Receptaculum eine gleichmäßige Dicke besitzt, während sich in der vorderen Hälfte auf der Ventralseite eine breite Spalte befindet, welche durch eine Lamelle des Sarkolemma verschlossen ist. Von außen treten an diese Lamelle 4 Muskelröhren heran, welche den Schließmuskel darstellen. Die Befestigungsstellen dieser Muskeln liegen an der äußeren Oberfläche des Receptaculum, die lokale Insertionsstelle da, wo das Receptaculum beginnt, die distale Insertionsstelle etwa in der Höhe der Ganglions. Beide laterale Muskelröhren besitzen einen größeren Durchmesser, während in den lateralen sich je ein Kern befindet. An der Insertionsstelle verschmilzt ein jedes mediale Rohr mit dem entsprechenden lateralen Rohre. Von außen ist das Receptaculum mit Ausnahme seiner hinteren Hälfte von einem Muskel umgeben, dem „Protrusor receptaculi proboscidis“. Dieser am oberen Teile des Halses beginnende Muskel befestigt sich in der Hälfte der Länge des Receptaculum und besteht aus 6–8 Muskelfasern, welche an der Stelle der distalen Insertion zu einem Muskelsyncytium ver-

schmelzen. Der Retractor proboscidis beginnt von dem Gipfel des Rüssels in Gestalt zweier Muskelfasern, welche sich über dem Ganglion in je 2 Aeste teilen, wobei über der Teilungsstelle je 1 Kern gelegen ist. Von den so zustande gekommenen 4 Aesten verlaufen 2 Aeste (die Retractores proboscidis dorsales) in dorsaler Richtung, durchsetzen die Muskelwandung des Receptaculum (um 0,12 mm hinter dem Ganglion) und befestigen sich an dessen äußerer Seite. Die beiden anderen Aeste verlaufen unter einem stumpferen Winkel ventralwärts (Retractores proboscidis ventrales), und enden, nachdem sie das Sarcolemma der Wandung des Receptaculum durchsetzt haben, auf dem Niveau des Ganglions. Hinter dem Ganglion befindet sich in der Höhlung der Rüsselscheide ein geräumiges Säckchen mit protoplasmatischem Inhalt und 2 Kernen; es ist dies der „Appendix des Markbeutels des Retractor proboscidis“.

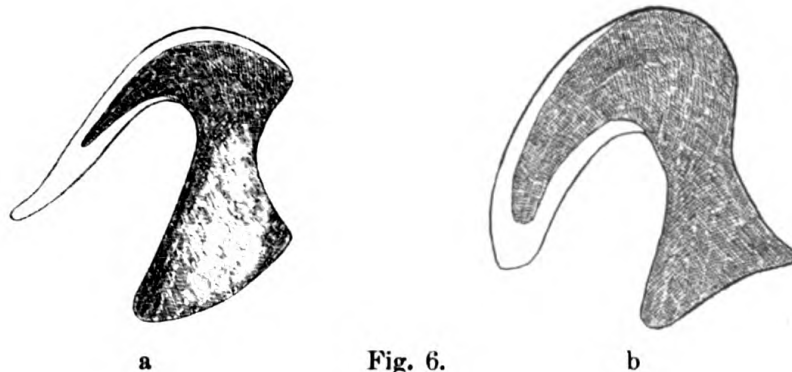


Fig. 6.

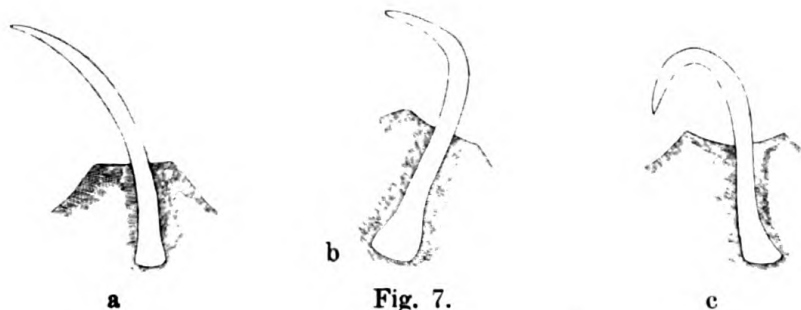


Fig. 7.

Von der hinteren Hälfte des Receptaculum beginnt von dessen äußerer Oberfläche ein paariger Retractor receptaculi proboscidis ventralis und ein unpaarer Retr. recept. prob. dorsalis. Diese Muskeln verwachsen darauf mit der Wandung des Ligamentum suspensorium. Zu den Muskeln des Rüsselapparates wird man noch den ventral verlaufenden Retractor colli rechnen können.

Das Ganglion cephalicum liegt annähernd in der Mitte der Länge des Receptaculum proboscidis in dessen Höhle und dabei exzentrisch (an der ventralen Wandung). Auf dem Längsschnitte besitzt das Ganglion eine dreieckige Gestalt; seine Dimensionen betragen  $0,15 \text{ mm} \times 0,07 \text{ mm}$ .

Der männliche Geschlechtsapparat besteht aus zwei am hinteren Körperende liegenden Hoden. Dieselben sind von „gurkenförmiger“ Gestalt. Die Dimensionen des ersteren derselben betragen  $2,07 \times 0,4 \text{ mm}$ , während der ca. 0,27 mm hinter ihm liegende zweite Hoden  $1,86 \times 0,21 \text{ mm}$

mißt. Noch weiter hinten liegen 4 Paare Kittdrüsen von unregelmäßiger Gestalt.

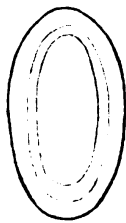


Fig. 8. nicht finden können.

Dezember 1912.

Bei dem Weibchen berstet das Ligamentum suspensorium nicht; die Dimensionen der Eierstöcke betragen  $0,165 \times 0,085$ . Die Eier (Fig. 8) sind von ovaler Gestalt und  $0,078-0,09 \times 0,04$  mm groß. Die Ausführungsgänge des weiblichen Geschlechtsapparates haben eine Ausdehnung von ca. 2 mm (wovon 0,64 mm auf die Uterusglocke, 0,36 mm auf den Schluckapparat, 0,58 mm auf den Uterus und 0,47 mm auf die Scheide kommen). Irgendwelche Spuren von Nephridien habe ich

#### Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1. *Gigantorhynchus otidis*.  $\frac{3}{4}$  nat. Größe.  
 Fig. 2. Rüsselapparat: *pr.* Rüssel. *c.* Hals. *lem.* Lemnisk. *nucl.* Kerne.  
*rec. pr.* Rüsselscheide.  
 Fig. 3. Längsschnitt durch den Körper: *m. l.* Längsmuskulatur des Körpers.  
*m. s.* Muskulatur der Segmente.  
 Fig. 4. Querschnitt zwischen den Segmenten.  
 Fig. 5. Querschnitt durch ein Segment.  
 Fig. 6. a, b. Häkchen des Rüssels.  
 Fig. 7. a, b, c. Stacheln des Halses.  
 Fig. 8. Eier.

*Nachdruck verboten.*

## Note on typhoid-paratyphoid vaccination with mixed vaccines.

By Aldo Castellani, M. D.,

Director Govt. Clinic for Tropical Diseases, Colombo, Ceylon.

Considering the fairly frequent occurrence of paratyphoid A and paratyphoid B in tropical regions, — at least in Ceylon and India, I have since several years advocated the use of a mixed vaccine viz: typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B, instead of the usual simple typhoid vaccine. Notes on the subject of mixed vaccines may be found in my old publications in the *Centralbl. f. Bakteriologie* (1909), in the *Transactions of the Bombay Medical Congress* (1909), in the *Ceylon Medical Reports*, and in various recent publications.

My belief in the possibility of an efficient mixed vaccine being produced was based on the experiments I carried out in Bonn, working under Prof. Kruse, during the years 1901 and 1902. I demonstrated then (see *Zeitschr. f. Hyg.* 1902) that by inoculating an animal with two different bacteria at the same time, the blood produced agglutinins and immune bodies for both, and that provided a sufficient minimum quantity had been inoculated the amount of agglutinins and immune bodies for each germ was about the same as in the animals inoculated with one germ only. I demonstrated that even inoculating a rabbit with three different micro-organisms (*B. typhosus* + *B. pseudo-dysentericus* No. 1 (Kruse) + strain of *B. coli communis*) the amount of agglutinins and protective bodies elaborated for each germ was nearly the same

as in animals respectively inoculated with one germ only. During the course of these experiments I was able to confirm that when the immunization is obtained by a single inoculation, provided the minimum dose sufficient to obtain the maximum immunization be given, the amount of agglutinins and immune bodies elaborated by the inoculated animals is not in proportion to the amount of cultures injected.

A series of rabbits inoculated with 2 c.c. of typhoid culture will give the same average agglutination limit and the same amount of immune bodies as a series of rabbits inoculated with 4 c.c.

Since 1905 I have experimented with several mixed vaccines in man, of which the principal ones are, a typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B vaccine; and a typhoid + dysentery (Kruse-Shiga) + dysentery Flexner vaccine. I will limit my remarks to the typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B vaccine, but I may be allowed to note that anyone wishing to experiment with mixed dysentery vaccines should be careful always to use pepton-water cultures, as broth cultures of dysentery give rise to an extremely painful infiltration at the point of inoculation.

#### Method of preparation of the mixed typhoid-paratyphoid vaccine.

The mixed vaccines as prepared by me are either dead vaccines, the cultures being killed in the usual way by heating at 53° C, or live attenuated vaccines, by heating the cultures at 50° C for an hour. During recent years I have used rather extensively both the dead mixed vaccine and the live attenuated one.

At first I used to prepare the vaccine as follows: several tubes containing 10 c.c. of broth each were inoculated with two loopfuls of an agar culture of typhoid 48 hours old; other tubes with two loopfuls of paratyphoid B, and others with two loopfuls of paratyphoid A. All the strains I used were non-virulent, but rich in antigen, as shown by animal experiments. The inoculated tubes were kept for 24 hours in the incubator at 35° C. These cultures were then heated in a water bath at 55° C (dead vaccine) or 50° C (live attenuated vaccine) for an hour; they were then mixed together in certain proportions in sterile Petri dishes, two tubes (20 c.c.) of typhoid, one tube (10 c.c.) of paratyphoid B and one tube (10 c.c.) of paratyphoid A. The mixed vaccine consisted then of two parts typhoid, one part paratyphoid A, and one part paratyphoid B. I used to give ten minims of the mixed vaccine at the first inoculation and twenty or more at the second and third. At the present time the vaccine is standardized by counting the germs before mixing. The mixed vaccine I use at the present time contains per c.c. 500 millions typhoid, 250 millions paratyphoid B, and 250 millions paratyphoid A, and is prepared either from broth cultures or emulsions in physiological salt-solution. A little lysol (0.2%) is added.

**Dose and Method of vaccination.** As already stated the mixed vaccine I now use, either the dead one obtained by heating cultures at 53° C, or the attenuated live one prepared by heating cultures at 50° C for an hour, contains per c.c. 500 millions typhoid, 250 millions paratyphoid A, and 250 millions paratyphoid B. I give 0.6 c.c. the first time and double the dose a week later, and whenever possible a third dose, two weeks from the first. In some cases, however, I give only 1/2 c.c. the first time, and 1 c.c. the second. Very thin delicate in-

dividuals and young women receive a little less. Children between 8 and 15 get  $\frac{1}{4}$  to  $\frac{1}{2}$  the adult dose. The inoculation of the mixed vaccine is followed by a local and general reaction which as a rule is not distinctly severer than after the inoculation of simple typhoid vaccine. Three or four hours after inoculation, the region on the arm where the injection had been made becomes painful and red, and fever may supervene, which does not last longer, as a rule, than 24 to 36 hours, and does not in most cases incapacitate one for work.

As I do not believe that the immunization given by bacterial inoculation lasts, in man, very long, I generally advise people to be vaccinated once every two years, or even once a year.

Innocuity of the mixed typhoid-paratyphoid vaccine. The mixed vaccine, either the dead one or the attenuated live one, is innocuous as proved by several thousand inoculations done to date in Ceylon. Prof. Browning, the Director of the Ceylon Govt. Chemical Institute, has to date received 35 inoculations of mixed (live) vaccine at one or two weeks intervals, in addition to 29 inoculations of simple typhoid (live) vaccine. He has always remained in very good health.

#### Remarks on the immunization obtained in man by the mixed vaccine.

Lack of time had prevented my studying the amount of all protective substances produced in inoculated individuals. The investigation therefore has been limited to studying comparatively the amount of agglutinins produced in some individuals inoculated with mixed and simple vaccines.

Two natives, David and Fernando, were inoculated with mixed (dead) vaccine, 0.6 c. c. first time: 1.2 c. c. after a week.

One native, Peter, was inoculated with simple typhoid vaccine (dead) 0.6 c. c. the first time: 1.2 c. c. after a week.

One native, Baba Singho, was inoculated with simple paratyphoid A vaccine (dead) 0.6 c. c. the first time: 1.2 c. c. after a week.

One native, Asson, was inoculated with simple paratyphoid B vaccine, 0.6 c. c. the first time: 1.2 c. c. after a week.

Two natives, A. E. de Silva and D. Gunasekera, were inoculated with 0.6 c. c. mixed live (attenuated) vaccine, and with 1.2 c. c. after a week.

One native, Isaac, was inoculated with 0.6 c. c. live (attenuated) typhoid vaccine, and with 1.2 c. c. after a week.

Vaccine used	Name of the inoculated persons	B. typhosus												
		weeks after 1st inoculation												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	13	15	
Mixed "dead"	David	0	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	
" "	Fernando	0	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	
Typhoid "	Peter	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	0	0	
Paratyph. A "	Singho	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
" B "	Asson	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Mixed "live"	A.D.deSilva	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	0	
" "	D. C. P. Gunasekera	0	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$	—	—	—	—	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	
Typhoid "	Isaac	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{80}$	
Paratyph. A "	Wellan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
" B "	Karuppen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	



One native, Wellan, was inoculated with 0.6 c. c. live (attenuated) paratyphoid A vaccine, and with 1.2 c. c. after a week.

One native, Karuppen, was inoculated with 0.6 c. c. live (attenuated) paratyphoid B vaccine, and with 1.2 c. c. after a week.

All the inoculated persons were healthy young natives who volunteered for the experiment. They were inoculated at the same time, on the same days, first inoculation taking place on the 14th June 1913, and the second on the 21st of the month. The blood of all the inoculated persons was investigated for presence of agglutinins regularly once a week, and the results are collected in the following table, for the compilation of which I am indebted to Mr. Burgess.

From the table it will be seen that the agglutinins seldom appear before the seventh day, and that individuals inoculated with a mixed typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B vaccine, produced agglutinins for all three germs, and that on the average the amount of agglutinins produced for each germ was not much smaller than in individuals inoculated with one germ only, although the latter had a much larger dose of the germ. As regards the length of time during which agglutinins were present in the inoculated individuals, the results did not differ much: if anything they were rather in favour of the mixed vaccines. Although of course one cannot gauge the actual immunization obtained, by simply studying the agglutination, there can be no doubt that to a certain extent agglutination in a rough index for immunization. It seems to me that these results are decidedly in favour of the advisability of using a mixed typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B vaccine, in countries where all three diseases are met with.

### Conclusions.

1. The use of the mixed typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B vaccine, either the dead or the live (attenuated) one is harmless. As there is such a general objection to the use of live vaccines I now recommend for routine use, the mixed dead vaccine which consists of an emulsion of typhoid and paratyphoid A and B bacilli, killed by heat (53° C) and standardized, so that 1 c. c. contains approximately 500 millions typhoid bacilli and 250 millions each of paratyphoid A and B.

B. paratyphosus A													B. paratyphosus B												
weeks after 1st inoculation													weeks after 1st inoculation												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	13	15	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	13	15		
0	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	0	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$		
0	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	0	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	0	$\frac{1}{20}$		
0	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	0	0	0	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	0	0	0	0	0	0		
0	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	—	—	—	—	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	0	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	—	—	—	—	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	—	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	0	0	0	—		

2. The inoculation of such vaccine to human beings in the doses mentioned in this paper, viz: 0,6 c. c., or about 10 minims, the first time, and 1.2 c. c., or about 20 minims, the second, induces a production of agglutinins for all three germs: *B. typhosus*, *B. paratyphosus* A and *B. paratyphosus* B. The amount of agglutinins elaborated for each germ seems to be practically the same as in individuals respectively inoculated with typhoid vaccine only, paratyphoid B vaccine only, paratyphoid A vaccine only.

3. In countries where besides typhoid there occur paratyphoid A and paratyphoid B, a mixed vaccine should, in my opinion be used instead of the simple typhoid vaccine. This has been done in Ceylon for the last five years, with good results.

I desire to express my indebtedness to Mr. Burgess, Ass. Bact., for the very valuable assistance rendered.

#### References to previous papers on Mixed Vaccines.

Castellani, (1902), *Zeitschr. f. Hyg.* — (1904), *Ceylon Med. Reports.* — (1909), *Centralbl. f. Bakt.* — (1910), *Transact. Bombay Med. Congress.* — (1912), *Transact. Soc. Trop. Med.* — (1913), *Lancet.*

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine neue Methode zur Virulenzprüfung der Eitererreger mittels intrakutaner Impfung.

[Aus der Universitäts-Kinderklinik zu Kyoto  
(Direktor: Prof. Dr. I. Hirai).]

Von Dr. Michio Kasahara, Assistenten der Klinik.

Es gibt bekanntlich zur Prüfung der Virulenz der Bakterien folgende Infektionsmodi: Die kutane, subkutane, intramuskuläre, intraperitoneale, intravenöse, intrapleurale, intrakranielle (subdurale), intraokulare und intraneurale Impfung, ferner die Infektion vom Verdauungstraktus (die Injektion in den Magen, in das Duodenum, die Impfung durch Fütterung) und die Infektion von den Luftwegen aus (die Inhalation, die intratracheale, resp. intrapulmonale Injektion).

Kürzlich hat L. Dreyer<sup>1)</sup> einen neuen Infektionsmodus, die intraartikuläre Impfung, hinzugefügt, die er besonders für die den Chirurgen interessierenden Eitererreger empfiehlt. Wird eine ganz geringe Menge (1—2 Oesen) von einer 24-stündigen Bouillonkultur der betreffenden Eitererreger in das Kniegelenk eines Kaninchens eingespritzt, so konstatiert man nach 24 Stunden eine Anschwellung des Gelenkes mit deutlichem Schonen desselben beim Laufen. Nach einigen Tagen findet man beim Eröffnen des Gelenkes eine starke Vereiterung.

Meine Nachprüfung dieser intraartikulären Impfung bestätigte im großen und ganzen die Angaben Dreyers.

1) *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. p. 106.*

No.	Datum	Versuchstier	Infektionsmodus	Injektionsmenge	Resultat
<b>Infektion mit Staphylokokken.</b>					
1	1. Juni	Kaninchen	intrakutan	0,1 ccm einer 24-stündig. Staphylokokkenbouillonkultur (Staph. aureus)	2. Juni. 3 mm große Pustel mit rotem Hof. (Aus Pustelinhalt mikrosk. u. kulturell Staph. aureus nachgew.) 3. Juni. Pustel etwas größer geworden. 7. Juni. Unter Krustenbild. geheilt.
2	3. Juni	Kaninchen	intrakutan	1 Oese einer 24-stündig. Staphylokokkenbouillonkultur	4. Juni. Pustel mit 7 mm Durchmesser, von unregelmäßigem roten Hof umgeben. 5. Juni. Durchmesser der Pustel um 1 mm größer geworden. 6. Juni. Wie gestern. (Aus Pustelinhalt sowohl mikroskop., als kulturell Staph. aureus nachgewiesen.)
3	4. Juni	Kaninchen	intrakutan	0,15 ccm	5. Juni. An der intrakutan geimpften Stelle 3 mm große Pustel. 6. Juni. Wie gestern. 7. Juni. Aus Pustelinhalt kulturell Staphyl. nachgew. 9. Juni. Unter Krustenbild. geheilt.
4	25. Juni	Kaninchen	subkutan	0,15 ccm	5. Juni. Keine Reaktion.
			intrakutan (Bauch)	0,1 ccm	26. Juni. Deutliche Pustelbildung. 27. Juni. Pustel nimmt an Größe zu. 28. Juni. Wie gestern.
			intramuskulär (Oberschenkel)	0,1 ccm	26. Juni. Keine Veränderung. 28. Juni. Getötet, innere Organe frei. Oberschenkel ohne besonderen Befund.
5	27. Juni	Kaninchen	intrakutan	0,2 ccm	28. Juni. 4 mm große Pustel. 29. Juni. Durchmesser der Pustel um 2 mm größer geworden. 30. Juni. Wie gestern. 2. Juli. Unter Krustenbild. vertrocknet.
<b>Infektion mit Streptokokken.</b>					
1	1. Juli	Kaninchen	intrakutan	0,3 ccm einer 24-stündigen Streptokokkenbouillonkultur	2. Juli. Rote Papel mit 5 mm Durchmesser. 3. Juli. 3 mm große Pustel mit rotem Hof.
2	1. Juli	Kaninchen	intrakutan	0,1 ccm	2. Juli. 3 mm große Papel. 3. Juli. Kleine Pustel. (Aus Pustelinhalt kulturell und mikroskop. Strept. pyog. nachgewiesen.)
			subkutan	0,1 ccm	2. Juli. Keine Reaktion. 3. Juli. Wie gestern.



No.	Datum	Versuchstier	Infektionsmodus	Injektionsmenge	Resultat
3	3. Juli	Kaninchen	intrakutan	0,5 ccm einer 24-stündigen Streptokokkenbouillonkultur	4. Juli. 3 mm große Pustel mit breitem roten Hof. 5. Juli. Wie gestern.
4	7. Juli	Kaninchen	subkutan	0,5 ccm	4. Juli. Keine Veränderung.
			intrakutan	1,0 ccm	8. Juli. 3 mm große Pustel mit breitem roten Hof 9. Juli. Pustel mit 5 mm Durchmesser. 10. Juli. Pustel wie gestern.
5	4. Juli	Kaninchen	subkutan	1,0 ccm	8. Juli. 2 mm große Papel. 9. Juli. 2 mm große rote Papel. 10. Juli. Papel verkleinert u. flacher geworden.
			intrakutan	0,15 ccm	5. Juli. 5 mm große Papel. 6. Juli. 3 mm große Pustel.
6	5. Juli	Maus	intramuskulär (Oberschenkel)	0,15 ccm	5. Juli. Keine Reaktion. 6. Juli. Am Oberschenkel keine Spur von Eiter nachweisbar.
			intrakutan	0,05 ccm	6. Juli. Miliargroße Pustel. 7. Juli. Wie gestern.
7	6. Juli	Maus	intrakutan	0,05 ccm	7. Juli. Miliargroße Pustel. 8. Juli. Wie gestern.
			subkutan	0,05 ccm	7. Juli. } Keine Reaktion. 8. Juli. }
Infektion mit <i>Pyocyaneus</i> .					
1	2. Juli	Meerschweinchen	intrakutan	0,2 ccm einer 24-stündigen <i>Pyocyaneus</i> -Bouillonkultur	3. Juli. Pustel mit 5 mm Durchmesser. 4. Juli. Wie gestern. (Aus Pustelinhalt kulturell <i>Pyocyaneus</i> nachgewiesen.)
2	3. Juli	Meerschweinchen	intrakutan	0,2 ccm	4. Juli. Pustel mit 5 mm Durchmesser.
			subkutan	0,2 ccm	4. Juli. 4 mm große Papel. 5. Juli. } Keine weitere Veränderung. 6. Juli. }
3	4. Juli	Meerschweinchen	intrakutan	0,1 ccm	5. Juli. 3 mm große Pustel mit rotem Hof. 6. Juli. 4 mm große Pustel. 9. Juli. Pustel unter Krustenbildung geheilt.
			intramuskul. (Oberschenkel)	0,1 ccm	5. Juli. Keine Veränderung. 6. Juli. } Keine Reaktion. 7. Juli. }

Wie Dreyer mit Recht bemerkt, muß jede neue, brauchbare Methode zur Virulenzprüfung der Eitererreger mit Freuden begrüßt werden, da die Tier- und Menschenvirulenz nicht immer Hand in Hand geht. So möchte ich auch die intrakutane Impfung als einen neuen Infektionsmodus veröffentlichen.

Nachdem Römer zuerst über die intrakutane Impfung von Tuberkulin berichtet hatte, wurde sie von vielen Autoren, besonders in pädia-

trischen Kreisen, als die zweckmäßigste Hilfsmethode zur Diagnose der Tuberkulose angepriesen. Die Methode hat den Vorzug, daß die zur Resorption kommende Menge von Toxin präzise gemessen werden kann. Meines Wissens ist aber diese intrakutane Impfung zum Zwecke der Virulenzprüfung noch von niemandem versucht worden.

Die Technik der intrakutanen Impfung gestaltet sich etwa folgendermaßen: Man entfernt zunächst den Tieren die Haare am Bauche in einem mäßig großen Felde durch Ausrupfen oder mit Calciumhydrosulfid, um darauf die Impfstelle mit Aether zu reinigen. Die intrakutane Injektion muß mit einer feinen, kurz abgeschliffenen Nadel möglichst oberflächlich, d. h. in die Haut geschehen. Man sieht bei der richtigen Ausführung derselben einen mehr oder weniger lange Zeit stehenbleibenden Tumor daselbst. Die Injektionsspritze (Rekord) und Nadel werden selbstverständlich stets vor Gebrauch sterilisiert.

Hat man in dieser Weise von einer 24-stündigen Bouillonkultur der Eitererreger eine ganz geringe Menge (0,05—0,1—0,2—1,0) in die Haut des Versuchstieres einverleibt, so bildet sich in der Regel innerhalb 24 Stunden eine Pustel mit rotem Hof, die nach weiteren 24 Stunden gewöhnlich das Maximum ihrer Entwicklung erreicht. Nach einigen Tagen bricht die Pustel spontan durch und heilt nach einigen Wochen unter Krustenbildung völlig aus.

Aus einer Gesamtzahl von 32 Versuchen, die ich in dieser Weise angestellt habe, greife ich einige heraus und stelle sie tabellarisch zusammen. Um das Resultat meiner Methode mit dem anderer Methoden vergleichen zu können, wurde das Tier in einer Reihe von Versuchen auch subkutan und intramuskulär infiziert. Die letztgenannte Infektionsmethode wird ja von v. Lingelsheim als der zweckmäßigste Modus für Staphylokokken und Streptokokken angepriesen (s. Tabelle).

In sämtlichen (32) Versuchen ergab sich ein ähnliches Resultat, welches sich in folgende Sätze resümieren läßt:

1) Injiziert man den Versuchstieren (Kaninchen, Meerschweinchen, Maus) eine geringe Menge (0,05—1,0 ccm) von einer 24-stündigen Bouillonkultur der Eitererreger (Staphylokokken, Streptokokken, *Pyocyanus*) intrakutan, so bemerkt man schon innerhalb 24 Stunden Pustelbildung mit rotem Hof.

1) Die Pustel heilt in einigen Wochen unter Krustenbildung aus, so daß das Versuchstier weiter für andere Versuche benutzt werden kann.

3) Die Methode ist einfach und empfindlich, das Resultat konstant und sicher.

4) Unter vielen Methoden zur Virulenzprüfung der Eitererreger stellt somit die intrakutane Impfung das zweckmäßigste Verfahren dar.

## Inhalt.

- Bosc, F. J.**, Le Protozoaire de la Clavelée, p. 516.
- Castellani, Aldo**, Note on typhoid-paratyphoid vaccination with mixed vaccines, p. 536.
- Fermi, Claudio**, Untersuchungen über Spezifität und andere Eigenschaften der Ektoproteasen, p. 401.
- Gabbi, U., Pellegrino, Paolo Lombardo u. Montoro, Giuseppe**, Untersuchung über die Kala-azar in den östlichen Provinzen Siziliens und Unter-Kalabriens, sowie über die erzielten Resultate, p. 505.
- Galli-Valerio, B.**, Nouvelles observations sur la Trombidiose des chèvres et sur sa transmission à l'homme, p. 488.
- —, Recherches sur la spirochétiase des poules de Tunisie et sur son agent de transmission: *Argas persicus* Fischer, p. 526.
- — u. **Rochas de Jongh, J.**, Beobachtungen über Culiciden, p. 529.
- Hadley, Philip B., Bryant, Ruth and Elkins, Marguerite**, Capsule-formation by the bacteria of haemorrhagic septicaemia, p. 478.
- Hesse, Erich**, Bakteriologische Untersuchungen auf einer Fahrt nach Island, Spitzbergen und Norwegen im Juli 1913, p. 454.
- Jurgelunas**, Zur Frage der experimentellen Masern, p. 483.
- Kasahara, Michio**, Ueber eine neue Methode zur Virulenzprüfung der Eitererreger mittels intrakutaner Impfung, p. 540.
- Kostylew, M.**, Ein Beitrag zur Anatomie von *Gigantorhynchus otidis* Miesch, p. 531.
- Miessner u. Kohlstock**, Diplokokkenbetunde bei unseren Haustieren, p. 490.
- Ustvedt, Ingvar u. Diesen, A.**, Gesunde Kokkenträger während einer Meningitis-epidemie, p. 481.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---



---

**Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.**

---

## Inhaltsverzeichnis.

### I. Verzeichnis der in Band 72 enthaltenen Arbeiten.

- Andersen, C. W.**, Ueber die Verwertung der Konglutationsreaktion als diagnostische Probe beim Rotz. 394
- Arima, R. und Sakamura, Y.**, Ueber die Bildung des Bakteriolysons durch Tuberkelbacillen und deren Gifte. 389
- Aumann**, Ueber die Brauchbarkeit der porösen Tondeckel für Bakterienkulturschalen. 398
- Bertani, Michele**, Beitrag zur Kenntnis der säurefesten, im Kote einiger Wirbeltiere anzutreffenden Bacillen. 270
- Bose, F. J.**, Le Protozoaire de la Clavelée. 516
- Brandt, Adolf**, Beitrag zur Kenntnis der Morphologie oxydierender Bakterienfermente. 1
- Bryant, Ruth s. Hadley, Philip B.**
- Cano, U.**, Ueber die Wanderung des Choleravibrios im Körper des befallenen Tieres. 124
- Castellani, Aldo**, Note on typhoid-paratyphoid vaccination with mixed vaccines. 536
- Cavara, V.**, Eine neue Form von Keratomykosis (Keratomykosis mucorina). 23
- Cederberg, O. A. s. Friedberger, E.**
- Citron, Heinrich**, Ueber experimentell erzeugtes Magensarkom bei der Ratte. 328
- Diesen, A. s. Ustvedt, Yngvar.**
- Dunbar**, Nachruf [für Heino Trautmann]. 257
- Eckard, B.**, Uebertragung des Trypanosoma rhodesiense durch die Glossina palpalis. 73
- Elkins, Marguerite s. Hadley, Philip B.**
- Engeland, Otto**, Ueber Säurebildung der Staphylokokken aus Kohlenhydraten und hochwertigen Alkoholen. Staphylokokkenmutation auf Brechweinsteinagar. 260
- Fermi, Claudio**, Untersuchungen über Spezifität und andere Eigenschaften der Ektoproteasen. 401
- Friedberger, E. und Cederberg, O. A.**, Der Komplementschwund und seine Beziehungen zur Anaphylaxie. Erwiderung an Dr. Bruno Busson. 385
- Gabbi, U., Pellegrino, Paolo Lombardo und Montoro, Giuseppe**, Untersuchung über die Kalaazar in den östlichen Provinzen Siziliens und Unter-Kalabriens, sowie über die erzielten Resultate. 505
- Galli-Valerio, B. und Rochaz de Jongh, J.**, Beobachtungen über Culiciden. 529
- Galli-Valerio, B.**, Nouvelles observations sur la Trombidiose des chèvres et sur sa transmission à l'homme. 488
- , Recherches sur la spirochétiase des poules de Tunisie et sur son agent de transmission: Argas persicus Fischer. 3<sup>e</sup> Mémoire. 526
- Gildemeister, E. und Günther**, Ueber neuere Verfahren zum Nachweis von Diphtheriebacillen und ihre praktische Bedeutung. 237
- Günther s. Gildemeister, E.**
- Hadley, Philip B., Bryant, Ruth and Elkins, Marguerite**, Capsule-formation by the bacteria of haemorrhagic septicaemia. 478
- Hanau, Alfred**, Ueber neuere Diphtherie-Nährböden. 245
- Hata, S.**, A contribution to our knowledge of the cultivation of Spirochaeta recurrentis. 107
- van Heelsbergen, T.**, Abortus bei Stuten durch einen Paratyphus B-Bacillus. 38
- Hesse, Erich**, Bakteriologische Untersuchungen auf einer Fahrt nach Island, Spitzbergen und Norwegen im Juli 1913. 454
- Jurgelunas, A.**, Zur Frage der experimentellen Masern. 483
- Kasahara, Michio**, Ueber eine neue Methode zur Virulenzprüfung der Eitererreger mittels intrakutaner Impfung. 540
- Katsurada, F.**, Schistosomiasis japonica. 363
- Koenigsfeld, Harry**, Beobachtungen und Studien über die Metastasenbildung beim Mäusekrebs. 335
- Kohlstock s. Miessner.**
- Kostylew, N.**, Ein Beitrag zur Anatomie von Gigantorhynchus otidis Miesch. 531
- Kritschewsky, J. L.**, Ein Versuch der Anwendung der Immunitätsreaktionen für das Studium des biogenetischen Grundgesetzes. 81
- Leon, N.**, Notes de Parasitologie. 380
- Marx, E.**, Ein Trockenpräparat (Ragittserum) zur Darstellung des Loeffler-Serums. 250
- Miessner und Kohlstock**, Diplokokkenbefunde bei unseren Haustieren. 490
- Montoro, Giuseppe s. Gabbi, U.**
- Müller, Reiner**, Fischsterben bei gleichzeitiger Vorticellenwucherung auf den Daphnien des Gewässers. 156

- Neufeld, F.**, Bemerkungen zur Frage der Typenumwandlung von Tuberkelbacillen. 120
- Orkin, Georg**, Erfahrungen mit dem Conradischen Pentan-Oelstäbchenverfahren zur Diphtherieanreicherung. 392
- Paucke, M.**, Eine neue Sicherheitsgaslampe. 254
- Pellegrino, Paolo Lombardo s. Gabbi, U.**
- Pollak, Richard**, *Sarcina tetragena* als Erreger einer Pneumonie. 147
- v. Prowazek, S.**, Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus. 94
- Rabinowitsch, Marcus**, Beitrag zur Frage über das Wesen der Syphilisreaktion. 102
- , Syphilis und Wassermannsche Reaktion bei den Findelsäuglingen. 344
- Regnér, Gustaf und Stenström, Olof**, Weitere Versuche mit von Behrings Bovovaccin. II. Versuche an gegen natürliche Tuberkuloseinfektion geschützten Rindern. 180
- Rochaz de Jongh, J. s. Galli-Valerio, B.**
- Ruppert, Fritz**, Was leisten die von W. Pfeiler und W. Lentz angegebenen Nährböden in der Praxis? 252
- Sakamura, Y. s. Arima, R.**
- Sangiorgi, Giuseppe**, Versuche mit dem filtrierbaren Virus der „Meerschweinchenpest.“ 70
- Seligmann, Erich**, Ueber Diphtheriebacillen. 127
- Serena, Paul**, Ueber Hefen und Fungi imperfecti in pneumonischen Herden bei Haustieren, und über Trichophytie der Lunge beim Kalbe. 273
- Stenström, Olof s. Regnér, Gustaf.**
- Toyoda, Hidezo**, Züchtungsversuche mit *Babesia canis* nach der Baßschen Methode. 76
- Trotzky, Illa**, Die Größe der Typhusbacillen, unter Anwendung der Kollektivmaßlehre bestimmt. 113
- Ubbens, Hermann**, Die Bereitung von Serum gegen die Schweinepest. 215
- Ustvedt, Yngvar und Diesen, A.**, Gesunde Kokkenträger während einer Meningitis-epidemie. 481
- Woloschin, A. D.**, Zur Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus im tierischen Organismus. 312
- Yokogawa, S.**, Ueber einen neuen Parasiten *Metagonimus yokogawai*, der die Forellenart *Plecoglossus altivelis* (Temminck) zum Zwischenwirt hat. Bildung einer neuen Gattung. 158

## II. Sachverzeichnis.

- Abort bei Pferden, Immunisierung. 52
- —, Immunität. 51
- —, durch einen Paratyphus B-Bac. verursacht. 38
- Abutilon vexillarium*, Protease. 437
- Acanthostachys strobilacea*, Protease. 437
- Acridium aegyptium*, Protease. 435
- Affe, Maserninfektionsversuch. 486
- Agapanthus umbellatus*, Protease. 437
- Agave americana*, Protease. 436
- Agglutination der Staphylokokken. 261
- Albizzia Julibrissin*, Protease. 437
- Aldrovanda vesiculosa*, Protease. 437
- Algen, Protease. 436
- Alkohole, hochwertige, Säurebildung durch Staphylokokken aus denselben. 260
- Allium porrum*, Protease. 437
- sativum, Protease. 437
- Alnus glutinosa*, Protease. 437
- Amanita caesarea*, Protease. 437
- ovoides, Protease. 437
- Amaranthus viridis*, Protease. 438
- Amorphophallus Rivieri*, Protease. 436
- Anagallis arvensis*, Protease. 436
- Ananas sativus*, Protease. 439
- Anaphylaxie s. Ueberempfindlichkeit.
- Antienzyme, natürliche, und proteolytische Enzyme. 418
- Araucaria brasiliensis*, Protease. 437
- Argas persicus*, Uebertragung der Hühnerspirochätose. 526
- Arundo donax*, Protease. 438
- Asclepias curassavica*, Protease. 436
- Askariden, Asphyxie durch dieselb. 380
- Asparagus officinalis*, Protease. 439
- Asphyxie, durch Askariden verurs. 380
- Aspidistra elatior*, Protease. 436
- Auge, Keratomykosis mucorina. 23
- , Vaccine-Infektion der Hornhaut bei Kaninchen. 94
- Auricularia* sp., Protease. 437
- Avena sativa*, Protease. 439
- Babesia canis*, Kultur nach Bass. 76
- Bacillus anthracis*, Biologie im tierischen Organismus. 312
- —, Kapselbildung. 312
- —, Morphol. im tierischen Organismus. 312
- —, Oxydation. 9
- —, Protease. 405
- —, Widerstandsfähigkeit. 315
- —, Wirkung von Lymphe. 315
- —, — von Serum. 315
- coli, Oxydation. 17
- diphtheriae s. auch Diphtherie.
- diphtheriae. 127. 237. 245. 250
- —, Anreicherung mit dem Conradischen Pentan-Oelstäbchenverfahren. 392
- —, Färbung. 238
- —, Kulturelles. 130. 239. 245. 250
- —, Nachweis. 130. 237. 245. 250
- —, Nährböden, neuere. 245. 250

- Bacillus dysenteriae*, Oxydation. 17  
 — *mycoides*, Oxydation. 17  
 — *oedematis maligni*, Protease. 405  
 — *paratyphi* s. auch *Paratyphus*.  
 — — *B. abortus*, Abort bei Stuten, Ursache desselb. 38  
 — — —, Bakterizidie. 58  
 — — —, Komplementbindung. 60  
 — — —, Kulturelles. 63  
 — — —, Pathogenität. 65  
 — —, Oxydation. 17  
 — *prodigiosus*, Oxydation. 17  
 — —, Protease. 405  
 — *pseudodiphtheriae*, Untersuchungen. 127  
 — *pyocyaneus*, Oxydation. 17  
 — —, Protease. 405  
 — —, Virulenzprüfung mittels intrakutaner Impfung. 542  
 — *subtilis*, Oxydation. 17  
 — *tetani*, Protease. 405  
 — *tuberculosis* s. a. Tuberkulose.  
 — —, Bakteriolyseinbildung. 389  
 — —, Gift. 389  
 — —, menschlicher, Beziehung zum Rindertuberkelbacillus. 120  
 — — der Rinder, Beziehung zum menschlichen. 120  
 — —, Typenumwandlung. 120  
 — *typhi* s. a. *Typhus abdominalis*.  
 — —, GröÙe. 113  
 — —, Oxydation. 17  
 — *vulgatus*, Oxydation. 17  
*Bacterium vulgare*, Protease. 405  
 Bakterien, Granula und Oxydase. 11  
 — Kulturschalen, poröse Tondeckel für dieselb. 398  
 — der Luft über dem Meere, Zählung. 474  
 —, Mutation. 267  
 —, oxydierende, Morphol. 1  
 —, Proteasen. 405  
 —, säurefeste, aus d. Kote einiger Wirbeltiere. 270  
 — d. hämorrhag. Septikämie, Kapselbildung. 478  
 —, Vorkommen im Meere. 454  
 Bakteriolyisin, Bildung durch *Bac. tubercul.* 389  
*Beta vulgaris*, Protease. 439  
*Boletus edulis*, Protease. 437  
*Bovovaccin* gegen Rindertuberkulose. 180  
*Box salpa*, Protease. 435  
*Brassica verrucosa*, Protease. 438  
*Bromelia* sp., Protease. 437  
*Broussonetia papyrifera*, Protease. 436  
 Brutplätze der Culiciden. 530  
*Buxus sempervirens*, Protease. 438  
*Calamintha nepeta*, Protease. 438  
*Calendula arvensis*, Protease. 438  
*Calonyction macrantholeucum*, Protease. 436  
*Cannabis sativa*, Protease. 437  
*Cantharellus cibarius*, Protease. 438  
*Carica Papaya*, Protease. 439  
*Casuarina quadrivalvis*, Protease. 436  
*Cavia cobaya*, Protease. 435  
*Ceranium*, Protease. 436  
*Cestrum Parqui*, Protease. 437  
*Chamaerops humilis*, Protease. 436  
*Chara*, Protease. 436  
*Chloris hortensis*, Protease. 435  
*Cholera* s. *Vibrio cholerae*.  
*Chrysanthemum album*, Protease. 438  
*Chrysomela varians*, Protease. 435  
*Cicer arietinum*, Protease. 438  
*Cissus quinquefolius*, Protease. 436  
*Clavaria formosa*, Protease. 437  
*Claviceps purpurea*, Protease. 438  
*Clivia miniata*, Protease. 437  
*Clusia* sp. Protease. 436  
*Coccinella septempunctata*, Protease. 435  
*Codium tomentosum*, Protease. 436  
*Collema Hildebrandii*, Protease. 436  
*Colocasia antiquorum*, Protease. 436  
*Convallaria japonica*, Protease. 437  
 — *majalis*, Protease. 437  
*Convolvulus arvensis*, Protease. 438  
 — *silvaticus*, Protease. 436  
*Coprinarius* sp., Protease. 437  
*Corylus avellana*, Protease. 439  
*Cotyledon*, Protease. 438  
*Crassula coccinea*, Protease. 438  
 Creeping disease, Vorkommen in Rumänien. 384  
*Cucurbita maxima*, Protease. 437  
 — *Pepo*, Protease. 439  
 Culiciden, Brutplätze. 530  
 —, Eierabsetzen. 530  
 —, Stechen. 530  
 —, Ueberwinterung. 529  
*Cuscuta Trifolii*, Protease. 537  
*Cycas revoluta*, Protease. 437  
*Cypripedium crassipes*, Protease. 437  
*Dahlia variabilis*, Protease. 438  
*Dammara australis*, Protease. 437  
 Daphnien, Vorticellenwucherung auf denselben und Fischsterben. 156  
*Darlingtonia*, Protease. 437  
 Darminhalt arkt. Vögel, bakteriolog. Untersuchung. 473  
*Dasylium acrothricum*, Protease. 436  
*Datura Metel*, Protease. 437  
*Dictyota dichotoma*, Protease. 436  
*Didenna* sp., Protease. 437  
*Didymium* sp., Protease. 437  
*Dioscorea bulbifera*, Protease. 437  
 Diphtherie s. a. *Bacillus diphtheriae*.  
 —, Diagnose, bakteriolog. 130. 237. 245. 250. 392  
 Diplokokkenbefunde bei Haustieren. 490  
 Disease, creeping, Vorkommen in Rumänien. 384  
*Dolichos lignosus*, Protease. 437  
*Drosera rotundifolia*, Protease. 437  
*Dyckia breviceps*, Protease. 436  
*Echinorhynchus* s. *Gigantorhynchus*.  
 Eier-Absetzen der Culiciden. 530  
 — von *Schistosomum japonicum*. 369  
 Eiter-Erreger, Virulenzprüfung mittels intrakutaner Impfung. 540  
 Eiweiß, Verflüssigung. 406  
 Ektoproteasen, Spezifität u. andere Eigenschaften. 401

<i>Eleagnus angustifolia</i> , Protease.	437	<i>Houlara macquenii</i> , Wirt von <i>Gigantorhynchus otidis</i> .	531
Enzyme, proteolytische, und Antienzyme, natürliche.	418	Hühner-Spirochätose, Uebertragung durch <i>Argas persicus</i> .	326
— —, Verhalten gegenüber Fällungsmitteln.	414	— —, Vorkommen in Tunis.	526
<i>Erica</i> sp., Protease.	437	<i>Hyacinthus orientalis</i> , Protease.	439
<i>Eropinota hirta</i> , Protease.	435	<i>Hydrophilus piceus</i> , Protease.	435
<i>Euphorbia altissima</i> , Protease.	439	<i>Hyoscyamus albus</i> , Protease.	438
— <i>balsamifera</i> , Protease.	436	<i>Jasminum azoricum</i> , Protease.	439
— <i>canariensis</i> , Protease.	436	Immunisierung gegen Abort bei Pferden.	52
— <i>Characias</i> , Protease.	438	— gegen Diplokokken.	496
— <i>coerulescens</i> , Protease.	436	— mit <i>Paratyphus-Typhus-Vaccinen</i> .	536
— <i>Firucalli</i> , Protease.	436	— gegen Schweinepest.	215
— <i>globosa</i> , Protease.	439	— gegen Tuberkulose der Rinder mit <i>Bovovaccin</i> .	180
— <i>grandidens</i> , Protease.	436	— mit <i>Typhus-Paratyphus-Vaccinen</i> .	536
— <i>Lathyrus</i> , Protease.	436	Immunität gegen Abort, seuchenhaften, der Stuten.	51
— <i>pubescens</i> , Protease.	439	— gegen Vaccine.	94
— <i>Wulfenii</i> , Protease.	437	Immunitätsreaktionen zum Studium des biogenetischen Grundgesetzes.	81
<i>Evonymus europaeus</i> , Protease.	438	Insekten, Protease.	435
<i>Faeces</i> , säurefeste Bakterien aus denselb.	270	<i>Ipomoea batatas</i> , Protease.	437
Fibrin, Verflüssigung.	406	<i>Juncus longus</i> , Protease.	438
<i>Ficus carica</i> , Protease.	436	Kälber, Hefen u. <i>Fungi imperfecti</i> in pneumonischen Herden.	274
— <i>elastica</i> , Protease.	436	—, <i>Monilia vituli</i> n. sp. in denselb.	276.
— <i>repens</i> , Protease.	436	—, <i>Torula vituli</i> n. sp. bei denselb.	276.
Filtration von Vaccine.	97	—, Trichophytie der Lunge.	238
Findelsänglinge, Syphilis u. Wassermannsche Reaktion.	344	Kala-azar, Untersuchung.	505
Fische, Protease.	435	— —, Vorkommen in Kalabrien.	505
Fisch-Sterben und Vorticellenwucherung auf Daphnien.	156	— —, — in Sizilien.	505
Flechten, Protease.	436	Kalabrien, Kala-azar.	505
<i>Foeniculum vulgare</i> , Protease.	438	Kaninchen, Vaccine-Infektion der Hornhaut.	94
Forellen als Zwischenwirt von <i>Metagonimus yokogawai</i> .	160	Kapsel, Bildung bei <i>Bac. anthracis</i> .	312
<i>Fuligo septica</i> , Protease.	437	—, Bildung bei Bakterien d. hämorrhag. Septikämie.	478
<i>Fungi imperfecti</i> in pneumonischen Herden bei Haustieren.	273	Kasein, Verflüssigung.	406
Gärung durch <i>Oidium suis</i> n. sp.	282	Keratomykosis mucorina, durch <i>Mucor cornalis</i> verurs.	23
Gaslampe, Sicherheits-	254	Körperchen, Vaccine-	99
Gelatine, Verflüssigung.	406	Kohlehydrate, Säurebild. durch <i>Staphylokokken</i> aus denselb.	260
<i>Geranium multiflorum</i> , Protease.	438	Komplementablenkung und Proteasen.	429
<i>Gigantorhynchus otidis</i> , Anatomie.	531	Komplementbindung mit <i>Bac. paratyphi</i> B abortus.	60
<i>Glossina palpalis</i> , Uebertragung des <i>Trypanosoma rhodesiense</i> .	73	— Wassermann zur Syphilisdiagnose.	344
<i>Glycine sinensis</i> , Protease.	436	— — bei Syphilis, Wesen.	102
Grundgesetz, biogenetisches, Immunitätsreaktionen zum Studium desselb.	81	Komplementfällung und Proteasen.	429
<i>Gryllus campestris</i> , Protease.	435	Komplementschwund und Ueberempfindlichkeit, Beziehungen.	385
<i>Gynerium argenteum</i> , Protease.	436	Konglutination zur Rotzdiagnose.	394
Haare, <i>Trichorexis nodosa</i> .	382	Kot s. <i>Faeces</i> .	
Hämolyse durch <i>Staphylokokken</i> .	260	Krebs, Mäuse-, Metastasenbildung.	335
Haustiere, Diplokokkenbefunde.	490	Kulturschalen, poröse Tondeckel für dieselb.	398
—, Hefen u. <i>Fungi imperfecti</i> in pneumon. Herden.	273	<i>Lagenaria vulgaris</i> , Protease.	437
<i>Hedera helix</i> , Protease.	438	Lampe, Sicherheitsgas-	254
<i>Hedychium maximum</i> , Protease.	437	<i>Lathyrus</i> , Protease.	437
Hefen in pneumonischen Herden bei Haustieren.	273	<i>Laurus nobilis</i> , Protease.	439
<i>Helianthus annuus</i> , Protease.	437	<i>Lecanora atra</i> , Protease.	436
<i>Helix campestris</i> , Protease.	435	<i>Lecidea geographica</i> , Protease.	436
— <i>hortensis</i> , Protease.	435	Leguminosen, Protease.	437
<i>Hibiscus speciosus</i> , Protease.	437		
<i>Hordeum sativum</i> , Protease.	439		
Hornhaut, Keratomykosis mucorina.	23		
—, Vaccine-Infektion bei Kaninchen.	94		

- Lepus cuniculus*, Protease. 435  
*Limax agrestis*, Protease. 435  
*Linum usitatissimum*, Protease. 437  
*Locusta viridis*, Protease. 435  
 Luft über dem Meere, Bakteriengehalt. 474  
 Lungen, Hefen und Fungi imperfecti in pneumonischen Herden. 273  
 —, Trichophytie beim Kalbe. 304  
*Lupinus hirsutus*, Protease. 439  
 Lymphe, Wirkung auf *Bac. anthracis*. 315  
*Lysimachia nummularia*, Protease. 437  
*Maclura aurantiaca*, Protease. 436  
 Mäuse-Krebs, Metastasenbildung. 335  
 Magen-Sarkom bei Ratten. 328  
*Magnolia grandiflora*, Protease. 437  
*Malva rotundifolia*, Protease. 439  
*Martynia proboscidea*, Protease. 437  
 Masern, Affeninfektionsversuch. 486  
 —, experimentelle. 483  
 Meer, Bakteriengehalt. 454  
 Meerschweinchenpest - Virus, filtrierbares, Versuche. 70  
*Melolontha vulgaris*, Protease. 435  
 Meningitis cerebrospinalis epidemica, gesunde Kokkenträger während einer Epidemie. 481  
 Meningococcus-Träger, gesunde, während einer Meningitisepidemie. 481  
*Mesembryanthemum geniculiflorum*, Protease. 438  
*Mespilus japonica*, Protease. 439  
*Metagonimus Yokogawai* n. g. n. sp., Anatomie, Morphol. 166  
 —, Biologie. 173  
 —, Cercarie, Entwicklungsperiode. 163  
 —, —, Morphol. 160  
 —, —, Widerstandsfähigkeit. 177  
 —, Eier. 174  
 —, Nachweis im menschl. Körper. 174  
 —, *Plecoglossus altivelis* als Zwischenwirt. 160  
 —, Verbreitung, geograph. 177  
 Metastasenbildung beim Mäusekrebs. 335  
*Microtrombidium pusillum* bei Ziegen, Uebertragung auf d. Menschen. 488  
 Mikroorganismen, Proteasen. 405  
*Monila vituli* n. sp., Kulturelles. 288  
 —, Morphol. 288  
 —, Systematisches. 290  
 —, Vorkommen bei Kälbern. 276, 284  
*Morus alba*, Protease. 436  
 — *tartarica*, Protease. 436  
*Mucor cornealis* n. sp., Biologie. 29  
 —, Kulturelles. 27  
 —, Morphol. 26  
 —, Pathogenität. 30  
 Mückenstiche. 530  
*Musa*, Protease. 437  
 Mutation von Staphylokokken auf Brechweinsteinagar. 267  
 Nährböden, feste, Herstellung. 252  
 Nase, *Monilia vituli* n. sp., in derselb. bei Kälbern. 288  
*Nelumbium speciosum*, Protease. 436  
*Nepenthes superba*, Protease. 437  
*Numida ptilorhyncha*, Wirt von *Gigantorhynchus otidis*. 531  
*Numida rikwae*, Wirt von *Gigantorhynchus otidis*. 531  
*Ocypus olens*, Protease. 435  
*Oedinemus crepitans*, Wirt von *Gigantorhynchus otidis*. 531  
 Oelstäbchen-Pentanverfahren zur Anreicherung des *Bac. diphtheriae*. 392  
*Oenanthe pimpinelloides*, Protease. 438  
*Oenothera coccinea*, Protease. 436  
*Oidium suis* n. sp., Gärversuche. 282  
 —, Infektionsversuche. 288  
 —, Kulturelles. 280  
 —, Morphol. 277  
 —, Sporenbildung. 283  
 —, Systematisches. 287  
 —, Vorkommen beim Schweine. 276  
*Opuntia*, Protease. 437  
*Orobanche hederæ*, Protease. 437  
*Otis macquennii*, Wirt von *Gigantorhynchus otidis*. 531  
 — *tarda*, Wirt von *Gigantorhynchus otidis*. 531  
 Oxydase und Granula der Bakterien. 11  
 Oxydation durch *Bac. anthracis*. 9  
 — durch Bakterien. 1  
 — durch *Vibro cholerae*. 10  
*Padina Pavonia*, Protease. 436  
 Papain, Eigenschaften. 403  
*Paratyphus* s. a. *Bacillus paratyphi*.  
 —, Immunisierung. 536  
*Parmelia alliaria*, Protease. 436  
 — *pulverulenta*, Protease. 436  
*Peltigera ciliaris*, Protease. 436  
 Pentan-Oelstäbchenverfahren zur Anreicherung des *Bac. diphtheriae*. 392  
 Pepsin, Eigenschaften. 402  
 Pest, Meerschweinchen-s. Meerschweinchenpest.  
 —, Schweine- s. Schweinepest.  
 Pferde, Abort, Immunisierung. 52  
 —, —, Immunität. 51  
 —, —, durch einen *Paratyphus* B-Bac. verursa. 38  
 Pflanzen, fleischfressende, Protease. 437  
 —, parasitische, Protease. 437  
*Phaseolus multiflorus*, Protease. 437  
 — *vulgaris*, Protease. 439  
*Philodendron pertusum*, Protease. 436  
*Phoenix canariensis*, Protease. 436  
*Phragmidium incrassatum*, Protease. 437  
*Physarum* sp., Protease. 437  
*Physica parietina*, Protease. 436  
*Phytolacca abyssinica*, Protease. 436  
 — *dioica*, Protease. 436  
 Pilze, Protease. 437  
*Pinus halepensis*, Protease. 436  
*Pircunia dioica*, Protease. 437  
*Pisum sativum*, Protease. 439  
*Pittosporum tobira*, Protease. 439  
*Placodium gypsaceum*, Protease. 436  
*Plasmopara viticola*, Protease. 437  
*Platanus orientalis*, Protease. 436  
*Plecoglossus altivelis* als Zwischenwirt von *Metagonimus Yokogawai*. 160  
*Plumeria alba*, Protease. 436  
 Pneumonie, Hefen und Fungi imperfecti in pneumonischen Herden. 273



Pneumonie, durch <i>Sarcina tetragena</i> verurs.	147	<i>Senecio vulgaris</i> , Protease.	438
Pocken, Schaf- s. Schafpocken.		<i>Serinus hortulanus</i> , Protease.	435
<i>Podocarpus sinensis</i> , Protease.	437	Serum, Ragit-, zur Darstellung des Loeffler-Serums.	250
<i>Poinsettia pulcherrima</i> , Protease.	436	— gegen Schweinepest, Bereitung.	215
<i>Polyporus corylinus</i> , Protease.	437	—, Verflüssigung.	406
— <i>fomentarius</i> , Protease.	437	—, Wirkung auf <i>Bac. anthracis</i> .	315
— <i>squamosus</i> , Protease.	437	Serumbehandlung der Schweinepest.	213
<i>Pontederia</i> , Protease.	437	Serumdiagnose der Syphilis.	344
<i>Portulaca oleracea</i> , Protease.	436	— — —, Wesen.	102
Proteasen, Ekto-, Spezifität u. andere Eigenschaften.	401	Sicherheitsgaslampe.	254
— und Komplementablenkung.	429	<i>Sinapis alba</i> , Protease.	439
— und Komplementfällung.	429	Sizilien, Kala-azar.	505
— von Mikroben.	405	<i>Solandra</i> sp., Protease.	437
—, Partial-, spezifische, Nachweis mittels d. Pollakschen Antikörpers.	419	<i>Solanum lycopersicum</i> , Protease.	438
— aus Pflanzenfressern, die tierische Eiweißkörper angreifen.	435	— <i>melongena</i> , Protease.	439
—, pflanzliche, die tierische Eiweißkörper angreifen.	436	— <i>nigrum</i> , Protease.	439
<i>Proteus vulgaris</i> , Protease.	405	<i>Solidago virga aurea</i> , Protease.	439
<i>Prunus amygdalus</i> , Protease.	438	<i>Sorghum cernuum</i> , Protease.	437
Ragits Serum zur Darstellung des Loeffler-Serums.	250	<i>Specularia arvensis</i> , Protease.	439
<i>Raphanus sativus</i> , Protease.	437	<i>Sphaeria concentrica</i> , Protease.	438
Ratten, Magensarkom.	328	<i>Sphaerobolus stellatus</i> , Protease.	438
<i>Ricinus communis</i> , Protease.	437	<i>Spirochaete recurrentis</i> , Kultur.	107
Rinder-Tuberkulose, Beziehung zu menschlicher.	120	<i>Spirochätose</i> , Hühner-, Uebertragung durch <i>Argas persicus</i> .	526
— —, Immunisierung mit Bovovaccin.	180	—, —, Vorkommen in Tunis.	526
Rotz, Diagnose mittels Konglutination.	394	Sporenbildung durch <i>Oidium suis</i> n. sp.	283
Rumänien, Creeping disease.	384	Staphylokokken, Agglutination.	261
<i>Ruta graveolens</i> , Protease.	438	—, Hämolysebildung.	260
Säuglinge, Findel-, Syphilis u. Wassermannsche Reaktion.	344	—, Hofbildung auf Blutagar.	261
Säurebildung von Staphylokokken aus hochwertigen Alkoholen.	260	—, Mutation auf Brechweinsteinagar.	267
— — — aus Kohlehydraten.	260	—, Unterscheidung pathogener von nicht pathogenen.	260
<i>Salvia speciosa</i> , Protease.	438	—, Virulenzprüfung mittels intrakutaner Impfung.	541
— <i>splendens</i> , Protease.	437	<i>Stereocaulon denudatum</i> , Protease.	436
Samenpflanzen, Protease.	436	Stiche, Mücken-.	530
<i>Sarcina tetragena</i> als Erreger einer Pneumonie.	147	Streptokokken, Virulenzprüfung mittels intrakutaner Impfung.	541
Sarkom, Magen-, bei Ratten.	328	Stuten, Abort, Immunität.	51
<i>Sarracenia purpurea</i> , Protease.	437	—, —, durch einen <i>Paratyphus B-Bac.</i> verurs.	38
Schafe, Diplokokkenbefunde.	493	Syphilis, Colles' Gesetz.	344
Schafpocken, Protozoon derselb.	516	—, Komplementbindung (Wassermann), Wesen.	102
Schalen, Kultur-, poröse Tondeckel für dieselb.	398	—, kongenitale.	344
<i>Schistosomiasis japonica</i> , Geschichtliches.	363	—, Profetas Gesetz.	344
— —, Prophylaxe u. Therapie.	377	—, Vererbung.	344
<i>Schistosomum japonicum</i> , Anatomie.	364	— und Wassermannsche Reaktion bei Findelsäuglingen.	344
— —, Biologie.	373	<i>Tamarix gallica</i> , Protease.	438
— —, Eier.	369	<i>Tamus communis</i> , Protease.	437
— —, Entwicklung.	370	<i>Tanghinia venenifera</i> , Protease.	436
— —, Pathogenität.	375	<i>Terfezia Leonis</i> , Protease.	438
Schweine, Hefen und Fungi imperfecti in pneumonischen Herden.	274	Tondeckel, poröse, für Bakterienkulturschalen.	398
—, <i>Oidium suis</i> n. sp. in denselb.	276	<i>Torula suis</i> 1, 2, 3 n. sp., Kulturelles, Morphol., Vorkommen usw.	276. 290
—, <i>Torula suis</i> n. sp. in denselb.	276. 290	—, Systematisches.	300
Schweinepest-Serum, Bereitung.	215	— <i>vituli</i> n. sp., Kulturelles, Morphol., Vorkommen.	276. 298
<i>Sclerotium semen</i> , Protease.	438	Toxin des <i>Bac. tubercul.</i>	389
<i>Scelopendrium officinale</i> , Protease.	438	<i>Trapa natans</i> , Protease.	437
<i>Secale cereale</i> , Protease.	439	Trautmann, Heino [Nachruf].	257
		<i>Tribulus terrestris</i> , Protease.	438
		Trichophytie der Lunge beim Kalbe.	304

<i>Trichophyton faviforme discoides</i> , Kultur.		<i>Vaccine-Körperchen</i> .	99
— — — in der Lunge des Kalbes.	304	— -Virus, Untersuchungen.	94
— — —, Morphol.	304	<i>Vanessa cardui</i> , Protease.	435
— — —, Pathogenität.	308	<i>Vanilla planifolia</i> , Protease.	436
<i>Trichorexis nodosa</i> .	382	<i>Vasconcellea hastata</i> , Protease.	436
<i>Triticum sativum</i> , Protease.	439	Verwerfen s. Abort.	
Trombidiasse der Ziegen und ihre Uebertragung auf den Menschen.	488	<i>Vibrio albensis</i> , Oxydation.	17
<i>Trypanosoma rhodesiense</i> , Uebertragung durch <i>Glossina palpalis</i> .	73	— cholerae, Oxydation.	10
<i>Trypanosomiasis</i> , Uebertragung durch <i>Glossinen</i> .	74	— —, Protease.	405
Trypsin, Eigenschaften.	402	— —, Uebergang in d. Blut u. andere Organe per os infiziert. Tiere.	124
<i>Tuber aestivum</i> , Protease.	438	— —, Uebergang in d. Exkremente der durch die Blutbahn infiziert. Tiere.	125
— <i>macrosporum</i> , Protease.	438	— —, Wanderung im Körper.	124
Tuberkulose s. a. <i>Bacillus tuberculosis</i> .		— Finkler-Prior, Protease.	405
—, menschliche, Beziehung zur Rindertuberkulose.	120	— <i>massauensis</i> , Protease.	405
— der Rinder, Beziehung zu menschlicher.	120	— Metschnikoff, Protease.	405
— — —, Immunisierung mit Bovovaccin.	180	— <i>milleri</i> , Protease.	405
Tunis, Hühnerspirochätose.	526	— <i>tyrogenes</i> , Protease.	405
<i>Tweedia nerifolia</i> , Protease.	436	<i>Vicia Faba</i> , Protease.	439
<i>Typhus abdominalis</i> s. a. <i>Bacillus typhi</i> .		— <i>sativa</i> , Protease.	439
— —, Immunisierung.	536	<i>Viola tricolor</i> , Protease.	437
Ueberempfindlichkeit und Komplementschwund, Beziehungen.	385	Virulenzprüfung der Eiterreger mittels intrakutaner Impfung.	540
Ueberwinterung der Culiciden.	529	Vögel, arktische, bakteriolog. Untersuchung des Darminhaltes.	473
<i>Ustilago Fischeri</i> , Protease.	437	—, Protease.	435
<i>Utricularia vulgaris</i> , Protease.	437	Vorticellenwucherung auf Daphnien und Fischsterben.	156
Vaccination mit Typhus-Paratyphus-Vaccinen.	536	Wasser, Meer-, Bakteriengehalt.	454
Vaccine-Filtration.	97	Wassermanns Reaktion bei Syphilis, Wesen.	102
— -Immunität.	94	Weichtiere, Protease.	435
— -Infektion der Hornhaut bei Kaninchen.	94	<i>Yucca gloriosa</i> , Protease.	437
		<i>Zea Mays</i> , Protease.	439
		Ziegen, Trombidiasse, Uebertragung auf d. Menschen.	488

### III. Verzeichnis der Abbildungen.

<i>Ascaris</i> in einer Lunge.	381	Fungi imperfecti, Kerne.	279
Auge, Keratomykosis mucorina. (Taf. I.)	37	Gaslampe, Sicherheits-.	254. 255
— Vaccineinfektion der Hornhaut.	99	<i>Gigantorhynchus otidis</i> , Anatomie.	532—
<i>Babesia canis</i> , Kultur. (Taf.)	80		536
<i>Bacillus anthracis</i> , Indophenolblausynthese. (Taf., Fig. 1.)	22	Haare, <i>Trichorexis nodosa</i> .	383
— —, Morphol. u. Biol. im tier. Organismus. (Taf.)	327	Haut, creeping disease.	384
— —, Rongalitweißreaktion. (Taf., Fig. 2.)	22	— Trombidiasis.	490
— paratyphi B abortus, Kultur.	63. 64	Hornhaut, Keratomykosis mucorina. (Taf. I.)	37
Bakterien, Darm-, von arktischen Vögeln, Kultur.	474	—, Vaccineinfektion.	99
Brutplätze der Culiciden.	530	Kälber, Trichophytie der Lunge.	307
Creeping disease.	384	Kaninchen, Trichophytie der Lunge.	310
Culiciden, Brutplätze.	530	Keratomykosis mucorina. (Taf. I.)	37
Daphnien mit Vorticellen.	157	Kerne bei Fungis imperfectis.	279
Darm-Bakterien arktischer Vögel, Kultur.	474	Körperchen, Vaccine-	99
Disease, creeping.	384	Krebs, Mäuse-, Metastasenbildung. (Taf. I —IV.)	344
Filtrationsapparat für Vaccinevirus.	97	Lampe, Sicherheitsgas-	254. 255
		Lunge mit <i>Ascaris</i> .	381
		—, Trichophytie beim Kalbe.	307
		—, — beim Kaninchen.	310

Mäuse-Krebs, Metastasenbildung. (Taf. I—IV.)	344	Schafpocken, Protozoon derselb. (Taf. I, II.)	520. 521. 524. 525
Magen-Sarkom bei Ratten. (Taf.)	329. 331. 333. 334	Schistosomum japonicum, Anatomie, Entwicklung usw. (Taf. I, II.)	364. 372. 379
Metagonismus Yokogawai n. g. n. sp., Anatomie, Entwicklung usw. (Taf. I—III.)	179	Schweinepest, Serumbereitung.	224. 227. 228
Metastasenbildung beim Mäusekrebs. (Taf. I—IV.)	344	Serum gegen Schweinepest, Bereitung.	224. 227. 228
Microtrombidium pusillum, Hautaffektion durch dasselbe.	460	Sicherheitsgaslampe.	254. 255
Monilia vituli, Morphol.	279. 289	Spirochaete recurrent, Kultur.	108
Mucor cornealis n. sp., Kultur. (Taf. II.)	37	Staphylokokken, Mutation auf Brechweinsteinagar.	268
— —, Morphol. (Taf. I, II.)	37	Torula suis, Morphol.	279. 291. 296
Nest von Polybia emaciata	530	— vituli, Kern.	279
Oidium suis n. sp., Morphol.	277. 279. 285	Trichophytie der Lunge beim Kalbe.	307
Pinzette.	328	— — — beim Kaninchen.	310
Pneumonie, durch Sarcina tetragena verursa.	148. 149	Trichophyton faviforme discoides, Morphol.	279. 305
Polybia emaciata, Nest.	530	Trichorexis nodosa.	383
Ratten, Magensarkom. (Taf.)	329. 331. 333. 334	Trombidiasis der Haut.	490
Sarcina tetragena, Erreger einer Pneumonie, Morphol. u. Kulturelles.	148. 149. 151	Vaccine-Filtrationsapparat.	97
Sarkom, Magen-, bei Ratten. (Taf.)	329. 331. 333. 334	— -Infektion der Hornhaut.	99
		— -Körperchen.	99
		Vögel, arktische, Darmbakterien.	474
		Vorticellenwucherung auf Daphnien.	157
		Ziegen, Betula nana abfressend.	489









\$.

